P.O.F.I. LIBRARY
JAN 7 1959
FISH & WILDLIFE SERVICE

INSTITUTO ESPAÑOL DE OCEANOGRAFIA

MINISTERIO DE MARINA

Estudios químicos sobre el mejillón (*Mytilus edulis*) de la ría de Vigo

por

Rafael López Costa
Lorenzo Rodríguez Molíns
José Ramón Besada Rial

BOLETÍN DEL
INSTITUTO ESPAÑOL DE OCEANOGRAFIA
N.os 84-85-86-87 MADRID Diciembre 1957

45.—Angeles ALVARIÑO: «Incrustaciones marinas».

46.—J. ARAVIO-TORRE y A. ARÉVALO: «Estudio de los wolframatos como agentes inhibidores de la corrosión».

47.—R. MARGALEF: «Estudio sumario del fitoplancton de la Ría de Vigo (1948-1950)».

48.—M. OLIVER y M. MASSUTÍ: «El raó, *Xyrichthys novacula* (Fam. *Labridae*). Notas biológicas y biométricas».

49.—F. LOZANO CABO: «Nota preliminar sobre la biometría, biología y anatomía general del *Notacanthus bonapartei* Risso».

50.—E. SECO SERRANO: «Velocidad vertical de propagación del sonido en el Mar de Alborán. Aplicación a la corrección de eco-sondas».

51.—G. COLOM: «Foraminíferos de las costas de Galicia (Campañas del *Xauen* en 1949 y 1950)».

52.—Joaquín GÓMEZ DE LLARENA: «Observaciones sobre los sedimentos de las costas de Galicia (Campañas del «Xauen» en 1949 y 1950)», con un Apéndice de Josefina PÉREZ MATEOS, sobre «Análisis mineralógico de algunas muestras».

53.—A. RODRÍGUEZ DE LAS HERAS y M. C. MÉNDEZ ISLA: «Contribución a los estudios químicos sobre pescados españoles».

54.—José M.ª NAVAZ y F. de P. NAVARRO: «Nuevas observaciones sobre la sardina del Golfo de Vizcaya (1951) y consideraciones sobre la estadística de pesca».

55.—R. FERNÁNDEZ y F. DE P. NAVARRO: «La sardina de Santander. Observaciones en 1950 y 1951».

56.—M. OLIVER y F. DE P. NAVARRO: «Nuevos datos sobre la sardina de Vigo (febrero de 1950 a marzo de 1952)».

57.—Emma BARDÁN y F. DE P. NAVARRO: «Estudios sobre la sardina de Málaga en 1951 y consideraciones sobre la variabilidad de su fórmula vertebral»

58.—M. OLIVER y F. NAVARRO: «La alacha y la sardina de Baleares. Investigaciones en 1950 y 1951».

59.—F. LOZANO: «Monografía de los Centracántidos mediterráneos, con un estudio especial de la biología, biometría y anatomía de *Spicara smaris* (L.)»

60.—E. JIMENO y A. ARÉVALO: «Acción inhibidora del ácido pirogálico en la corrosión del hierro por el agua del mar».

61.—P. BALLE: «Fitoplancton de la bahía de Palma de Mallorca (Año 1952)».

62.—B. ANDREU: «Sobre la relación entre el número de branquispinas y la talla en la sardina española (*Sardina pilchardus* Walb.)».

63.—M. CLIVER: «Bionomia de los fondos de 300 a 600 mts. en el Sur y Suroeste de Mallorca...».

(Sigue en tercera página de la cubierta.)

DETERMINACION COLORIMETRICA DEL PLOMO EN EL MEJILLON (*Mytilus edulis*) Y EN EL AGUA DE MAR DE LA RIA DE VIGO

por

RAFAEL LÓPEZ COSTA y LORENZO RODRÍGUEZ MOLINS

Número 84 **Diciembre de 1957**

Rafael López Costa y Lorenzo Rodríguez Molíns

DETERMINACION COLORIMETRICA DEL PLOMO EN EL MEJILLON (*Mytilus edulis*) Y EN EL AGUA DE MAR DE LA RIA DE VIGO

Consideraciones preliminares

En multitud de trabajos se resalta que la presencia o carencia de oligoelementos influye notablemente en el curso de la vida de los animales, y de ahí el creciente interés de los biólogos por este aspecto de la investigación, y pensamos como Noddack (1) que el ambiente —el mar—se puede analizar con relativa facilidad, siendo siempre interesante examinar la oscilación de los citados elementos en el mismo, y precisamente en las proximidades ambientales donde vive el molusco que se estudia, aun en el caso de referirse a un solo metal.

La mayoría de los metales pesados no forman ninguna parte constituyente de la estructura de los tejidos animales (tal vez actúen en algunos casos como catalizadores o retardadores de ciertas funciones vitales), pero cuando uno de estos elementos se encuentra destacadamente aumentado, se puede asegurar que juega un papel en el organismo.

Los trabajos de Noddack (ya citado), Boury, H. Chœftel, P. Jaulmes y otros, que se detallan más adelante, nos hicieron ver la conveniencia de estudiar el contenido en plomo del agua de mar en diferentes lugares de la Ría de Vigo donde hay viveros flotantes de

(1) Ida Noddack und Walter Noddack : «Die Häufigkeiten der Schwermetalle in Meerestieren». Arkiv för Zoologi. Band 32, n.° 4, Stockolm, 1940.

mejillones (*Mytilus edulis*), que es el molusco de explotación más racional e intensa, y en los cuales éstos se fijan en cuerdas de unos cinco metros , y teniendo en cuenta esto, hemos procurado hacer las tomas de muestra de agua siempre a una profundidad de tres metros y en la proximidad misma de las cuerdas del vivero. De esta forma evitábamos tomar las aguas sucias propias de la superficie y hacer más real la determinación, pues prácticamente se toma la muestra del mismo ambiente en contacto con las cuerdas del vivero.

H. CHEFTEL y otros (2) hacen destacar que los moluscos encierran a menudo unas cantidades de arsénico y plomo muy elevadas en comparación con otras sustancias alimenticias. En los crustáceos se fijan de preferencia en los caparazones (de 15 a 20 mgr. por kilogramo), lo que no nos debe sorprender, puesto que este metal entra también a formar parte en el esqueleto fosfocalcáreo de los mamíferos marinos. Nosotros, sin embargo, hemos partido de la porción comestible de los moluscos para hacer el correspondiente tratamiento con vistas a la determinación, pues, además de ser el material que verdaderamente se consume, tiene un contenido más rico en plomo que la parte comestible de los crustáceos (2). A la vista de las cifras que damos más adelante al exponer los resultados, los números de CHAPMAN y LINDEN (3) los consideramos exageradamente elevados, ratificando nuestra tesis los valores aportados por BOURY y NODDACK. Por otro lado, tampoco negamos la posibilidad de contaminación ambiental, que, desde luego, habría que comprobar.

Todo esto nos indujo a determinar el contenido de plomo del agua de mar en diversos lugares de la Ría de Vigo, así como del mejillón que se cría en cada uno de ellos. Además, hemos procurado seguir haciendo determinaciones en los mismos lugares y en diferentes épocas del año, tratando de interpretar las variaciones observadas.

Al iniciar el trabajo, nos percatamos de que los métodos hasta ahora propuestos para hacer estas determinaciones ofrecen varios inconvenientes, por lo que hubimos de establecer una técnica propia.

---

(2) H. CHEFTEL, P. JAULMES, P. PRECEPTIS, NGO. VAN HOAI, MME. N. NOWAK et MME. P. FRICHET : «La teneur en plomb et en arsenic de quelques crustaces et mollusques marins comestibles». *Annales de fals. et de fraudes*, 1949, *42*, 411, 425.

(3) A. C. CHAPMAN and LINDEN : «On the presence of lead and other metallic impurities in marine crustaceans and shell fish». *Analyst*, 1926, *51*, 563-64.

Discusión del método

En un trabajo publicado por uno de nosotros en colaboración con el Director del Laboratorio de Vigo, don Antonio Rodríguez de las Heras (4), establecimos un método para determinar plomo en conservas, que daba buenos resultados, aunque la técnica pecaba quizás de un tanto delicada para utilizarla en la práctica sistemática. Por otra parte, estimando que el método del sulfuro es método seguro, no pensamos en utilizar la difeniltiocarbazida (ditizona), dada la técnica tan delicada empleada en la valoración con este reactivo y la gran sensibilidad del mismo a la presencia de otros metales y de fosfatos alcalino-térreos, presentando, además, otro gran inconveniente, tal como el de la formación, en presencia del hierro, de una turbidez al añadirle el cianuro potásico, fenómeno debido a una oxidación irreversible del complejo Pb-ditizona, que nos obligaría a calcular previamente la cantidad de cianuro a emplear para evitar esta oxidación. Boury (M.), (5), en su interesante trabajo sobre la valoración del plomo en el medio marino, nos dice arrastra el plomo bajo forma de sulfuro, arrastre que realiza cuantitativamente añadiendo varios miligramos de cobre al líquido tratado. Pero la valoración la realiza después haciendo un ataque ácido de los sulfuros y separando el plomo con la ditizona.

Advierte también Boury que la floculación de los sulfuros es mala si la concentración en cloruro sódico es muy fuerte, y nos indica que el problema no debe tener más de un 15 por 100 para que la precipitación se realice en condiciones óptimas, y, a estos efectos, hace la concentración partiendo de dos litros de agua de mar y reduciéndolos a 400 ml. El método es laborioso, pero lo consideramos muy estimable por los datos que aporta.

Pensamos, en consecuencia, concentrar el agua del mar desde dos litros hasta unos 400 ml., pero añadiéndole previamente 10 ml. de HCl de densidad = 1.10 (exento de Pb), y 15 ml. de solución de citrato amónico al 25 por 100 (también exento de Pb), a fin de disminuir la cantidad de precipitado que se forma durante la concentración, habiendo comprobado repetidamente su efectividad.

---

(4) *Revista de las Ciencias*, año XII, núm. 4.

(5) Boury, M., 1938: «Le plomb dans le milieu marin». *Rev. des travaux scientiphiques de l'Off. des Pêches*, 11,157.

Pensamos también utilizar a continuación el método del sulfuro haciendo un tratamiento igual y simultáneo con una prueba en blanco, pero eliminando en ambos el hierro que pudieran contener por medio del sulfocianuro amónico (por formación del sulfocianuro de hierro de color rojo), color que a continuación se extrae de una manera rápida y satisfactoria siguiendo las normas de la farmacopea británica (6) para las técnicas con sulfuro, empleando el solvente (éter etílico y alcohol amílico 1 : 1) hasta extracción total del color. Después de separado el hierro, quedaban un conjunto de metales cuya presencia, ya en el agua del mar, ya en los reactivos, podrían interferir la determinación, en especial el Cu, Zn y Ni, pero que, por la adición de cianuro potásico en medio amoniacal a pH 9, formaríamos complejos estables de fórmula Cu $(CN)_2$, Ni $(CN)_2$, etc., que no impiden la formación del sulfuro de plomo.

La exigua cantidad de fosfatos (0,2 por 100 de valor medio), tanto en el agua de mar como en la parte comestible de los mejillones, comprobada por las determinaciones que se hicieron (con y sin fosfatos), nos hizo llegar a la conclusión de que no perturba la precipitación de los sulfuros en medio alcalino.

Después de las comprobaciones anteriores, procedimos a la sulfuración de ambas muestras (problema y tipo), y las comparamos en campanas Henner sobre fondo blanco.

Dada la pequeña cantidad de plomo existente en ambos materiales de investigación, hemos partido de cantidades considerablemente grandes de ambos. Del agua de mar, como decíamos más arriba, partimos de dos litros, y de las cenizas de mejillones hemos partido de dos a tres grs. de cenizas, que corresponden a unos 150 grs. de sustancia fresca comestible. Las cenizas se obtuvieron por incineración en cápsula de cuarzo para evitar las posibles pérdidas de oligoelementos (como sucede con las incineraciones hechas en crisoles de porcelana esmaltada) y en especial aquellos que están combinados con la materia orgánica, teniendo en cuenta, además, que de estas mismas cenizas se partió para determinar otros cationes. Por otra parte, esta incineración en cápsula abierta no es perjudicial ni produce pérdida sensible, habida cuenta de que las combinaciones volátiles que pudieran producirse (As_2O_3 y OsO_4) no se toman en consideración en esta determinación.

---

(6) *British Pharmacopeia*, 1953, pág. 745.

Técnicas utilizadas : fundamento, reactivos

En la discusión de la técnica para determinar el Pb en las conservas de pescado, ya citada (4), modificamos ésta en el sentido de eliminar la loción con ácido sulfúrico, ya que el hierro lo eliminamos de otra manera.

La solución de citrato amónico la añadimos al agua del mar con la misión principal de disminuir o anular la cantidad de precipitado durante la evaporación, pero, al mismo tiempo, para aprovechar su acción disolvente sobre los fosfatos que pudieran existir y que podrían retener algo de plomo al precipitar.

Se hace una evaporación de agua de mar en medio clorhídrico hasta un pequeño volumen , se extrae el hierro con solvente éter-alcohol amílico 1 :1, agregamos el CNK y NH_3 hasta Ph 9 , se filtra y trata con sulfuro.

En el caso de los mejillones, las cenizas quedan disueltas en solución nítrica, cuya concentración final es al 10 por 100, y de ahí se parte para hacer la determinación que se sigue de igual manera.

Reactivos controlados y material :

1. *Solución diluída de amoníaco exenta de plomo.*—La comprobación la efectuamos de la siguiente manera : 20 ml. de amoníaco, más 1 ml. de CNK (exento de plomo). Diluir a 50 ml. Añadir dos gotas de sulfuro sódico exento de plomo. No debe producirse el menor enturbiamiento.

2. *Solución de cianuro potásico exenta de plomo.* — Disolver 10 gr. de CNK en 90 ml. de agua y añadir dos ml. de peróxido de hidrógeno ; dejarlo en reposo veinticuatro horas y completar a 100 ml. con agua.

Comprobación : Dos ml. de solución más cinco ml. de amoníaco (exento de plomo), más 40 ml. de agua. Añadir cinco ml. de solución diluída de sulfuro sódico. No debe producirse oscurecimiento.

3. *Solución de sulfuro sódico exenta de plomo.*—Disolver 10 gr. de sulfuro sódico en suficiente cantidad de agua para producir 100 ml. y filtrar.

4. *Solución de plomo fuerte.*—Disolver 0,16 g. de nitrato de

plomo en cinco ml. de ácido nítrico y suficiente cantidad de agua para 100 ml.

5. *Solución diluída de plomo.*—Diluir un ml. de solución fuerte de plomo con suficiente agua hasta 100. Esta solución *debe ser reciente* y contiene 0,01 mgr. de plomo por ml.

6. *Solvente.*—Mezcla 1 : 1 de éter sulfúrico y alcohol amílico purísimo.

7. *Acido cítrico.*—Comprobación : Disolver 10 gr. en 25 ml. de agua, alcalinizar con la solución de amoníaco indicada, añadir un ml. de solución de cianuro potásico, diluir a 50 ml. y añadir dos gotas de solución de sulfuro sódico. No debe producirse oscurecimiento.

8 y 9. *Acidos nítrico y clorhídrico.*—Comprobación : Con estos ácidos hacer pruebas similares utilizando las proporciones empleadas en el apartado número 7.

10 *Solución de citrato amónico.*—Disolver 400 gr. de ácido cítrico en agua, añadir gradualmente unos 340 ml. de solución de amoníaco fuerte hasta alcalinidad al papel tornasol y diluir a 1.000 ml. con agua.

Comprobación : A 25 ml. añadir un ml. de solución de KCN, diluir a 50 ml. con agua destilada y añadir dos gotas de solución de sulfuro sódico. No debe producirse oscurecimiento.

11. *Solución de caramelo preparada con buen azúcar de piedra.*—Eliminar hierro haciendo las extracciones necesarias con el solvente y después hacer una investigación del Pb partiendo de un ml. de solución de caramelo.

12. La casi totalidad del material empleado en esta determinación era de vidrio Pyrex, que se había lavado previamente con solución caliente de ácido nítrico (modalidad que adoptamos para evitar contaminaciones accidentales).

Recogida de agua de mar.

Como necesitamos gran cantidad de agua de mar, utilizamos como dispositivo para la captura de ésta un botellón de vidrio de unos tres litros de capacidad, lastrado con unas planchas de hierro de cuatro kilos de peso en total para conseguir una rápida inmersión de la botella. Esta lleva un tapón de caucho fijado al extremo de un cabo largo de palangre.

Para tomar la muestra de agua se desliza el frasco hasta la pro-

fundidad de tres metros, una vez alcanzada la cual se da un fuerte tirón por el cabo unido al tapón para destapar el frasco, y cuando cese el burbujeo (el llenado tarda unos setenta segundos), se recoge el frasco y se cierra nuevamente en la cubierta de la embarcación.

Técnica adoptada para la determinación del plomo en el agua del mar

Tratamiento previo.

En un matraz se echan dos litros de agua de mar recién recogida, se le añaden 10 ml. de ácido clorhídrico concentrado y 15 ml. de citrato amónico al 25 por 100 y se concentra hasta un volumen de unos 400 ml. Con esto se evita la formación de precipitados de metales alcalinos térreos, que de otra manera se presentarían al concentrar el líquido. Una vez fría, se pasa el agua de mar a un matraz aforado de 500 ml. y se completa con agua destilada el volumen. Se empleó en este caso el ácido clorhídrico con preferencia al nítrico para evitar la oxidación de los sulfuros.

Ahora se toman 50 ml. del problema, se echan en una ampolla de decantación, se le adicionan cinco ml. de sulfocianuro amónico al 5 por 100, y la coloración roja que se forma de sulfocianuro férrico se extrae con el solvente éter-amílico hasta que el solvente salga incoloro. La extracción se consigue más fácilmente haciendo primero una extracción con gran cantidad de solvente, y después extracciones con poco.

El líquido exento de hierro se pasa a un matraz de 300 ml., se le adicionan cinco ml. de cianuro potásico y cinco ml. de amoníaco, obteniéndose así un pH 9 que se comprueba con el papel indicador universal Merck. Se filtra, dándonos por lo general un líquido claro; si no fuera así, se filtra otra vez hasta conseguir un líquido lo más límpido posible, que se recoge en una de las campanas Henner (téngase en cuenta que se debe tratar simultáneamente la solución tipo y que se deben igualar los volúmenes ocupados en las campanas Henner, añadiendo agua destilada al líquido de menor volumen). Se añaden dos gotas de sulfuro sódico al 10 por 100, obteniéndose una suspensión de color amarillento.

Solución tipo (que debe prepararse simultáneamente con el problema a partir de la extracción del hierro).

En un matraz de 300 ml. se colocan 0,5 ml. de HCl concentrado y seguidamente 50 ml. de agua destilada y cinco ml. de solución de sulfocianuro amónico, haciendo después la extracción del hierro en la forma dicha. Al líquido exento de hierro se le adicionan cinco ml. de KCN y se alcaliniza con cinco ml. de amoníaco. A continuación se le añaden 1,75 ml. de solución de Pb diluída reciente (contenido, 3,5 gammas por millón), se filtra a la otra campana Henner y se le añaden también dos gotas de sulfuro sódico Se igualan los volúmenes de la solución problema y la solución auxiliar de la forma ya indicada y se hace la lectura.

En ciertos casos en que no hay una igualación perfecta en el color de los líquidos a comparar (caso que se da alguna vez cuando se opera con cenizas disueltas de mejillones), antes de añadir el sulfuro sódico, se consigue una igualación aceptable añadiendo una gota de solución de caramelo en la campana que tenga el tono más débil.

Cálculos.

Se aplica la fórmula conocida para las campanas Henner utilizando el tipo preparado (de 3,5 gammas por millón), y obtenemos como resultado el número de gammas por ciento de disolución utilizada que contiene la disolución problema.

Técnica utilizada para determinar plomo en el mejillón

Tratamiento previo general común para determinaciones de cobre, plomo y calcio.

Como en este Laboratorio, a la par que la técnica descrita se hallan en estudio otras, para determinación en este molusco de otros metales, se ha procurado unificar los puntos de partida, tratando la muestra de la misma manera para que sirva para la determinación de los metales cobre, calcio y plomo.

Los mejillones recién llegados al Laboratorio se abrieron para extraerles su cuerpo entero y se pusieron a escurrir sobre una placa horadada de porcelana. Una vez escurridos, se picaron en máquina hasta reducirlos a una papilla ; de ésta se toma una parte y se incinera en cápsula de cuarzo a una temperatura de 500° C., obteniéndose cenizas blancas con ligeras manchas de tono dorado.

Las cenizas se disuelven en 30 ml. de ácido nítrico 2N. Después

se añaden 50 ml. de agua y se calienta a unos 60°-80° C. durante una hora. Se le adiciona un poco más de ácido nítrico concentrado (uno a dos ml.) y se hierve durante un rato, obteniéndose así un líquido ligeramente pardo claro que deja un ligero residuo insoluble. Por último, se pasa el líquido con el residuo a un matraz aforado de 250 ml., enrasando después con agua destilada.

Determinación.

Se toman 50 ml. de la solución problema contenida en el matraz de 250 ml. y se sigue exactamente lo indicado para el agua de mar en el epígrafe «determinación».

Solución tipo (que debe también prepararse simultáneamente con la solución problema).

Debe seguirse exactamente lo dicho para la preparación de la solución auxiliar del agua de mar, con la única variante de añadir al principio 0,5 ml. de ácido nítrico, en vez de igual cantidad de ácido clorhídrico.

Los cálculos se hacen de modo análogo al indicado para el agua de mar.

Resultados obtenidos

En el diseño de la Ría de Vigo que adjuntamos van indicados los parajes donde se han tomado las muestras de agua de mar (a tres metros de profundidad) y capturado los mejillones.

El agua de mar se recogió lo más próxima posible a las cuerdas del vivero sobre las que están fijos los moluscos.

A estos efectos es de utilidad introducir el concepto de «factor de enriquecimiento» empleado por Noddack, quien lo utiliza para hacer resaltar el contenido en metales de diversos animales marinos con relación al agua de mar. Nosotros lo referimos solamente al mejillón y al medio marino, calculando un «factor de enriquecimiento de cada una de las muestras» y un «factor medio de enriquecimiento». El primero se obtiene dividiendo el contenido en plomo de cada una de las muestras por el contenido en plomo de la correspondiente agua de mar, y el segundo es la media aritmética del factor de enriquecimiento de cada una de ellas.

Hay que tener en cuenta para los cálculos de este factor que el

contenido en plomo del mejillón viene expresado en unidades de orden de 10^{-6}, o sean en gammas por gramo, y la concentración del agua de mar, en unidades del orden 10^{-9}, o sean en gammas por litro.

En el cuadro que se adjunta se detallan los resultados obtenidos en las determinaciones de Pb en agua de mar y mejillón, así como los factores de enriquecimiento correspondientes.

Conclusiones

1.ª Nuestros números unas veces coinciden y otras son ligeramente superiores con los que dan Boury y Noddack para el agua de mar, y también hay coincidencia con las cifras que se dan para los moluscos por los autores citados y por H. Cheftel, P. Paulmes, etc.

2.ª Estos resultados difieren bastante de los de Chapman y H. Linden, cuyas cifras marcadamente elevadas pueden ser imputables (Dick and L. I. Pugsley) (7) a la elevada concentración de sustancias extrañas, debido a los residuos industriales vertidos en el Támesis.

3.ª Sorprende la pequeña variación de los factores medios de enriquecimiento, concepto, como ya hemos dicho, empleado por Noddack (I), en comparación con la concentración en el agua de mar. Hechos que nos hacen pensar en la idea de que la acumulación de los metales pesados por los organismos marinos inferiores es más bien debida a un efecto de filtración de la materia viva sobre los metales que llegan a los tejidos y allí se convierten en combinaciones difícilmente solubles o se retienen por absorción. Este proceso pudiera ser un índice en cierto modo de la cantidad de agua que pasó por los tejidos.

Si fuese un efecto de filtración, los motivos sobre los que se fundamenta la acumulación estarían condicionados a dos factores : 1.° A la concentración de los metales pesados en el agua de mar ambiental ; y 2.° A la tendencia a formar combinaciones difícilmente solubles.

En cuanto al primer factor, parece estar de acuerdo que una se-

---

(7) Dick, J. and L. I. Pugsley : «The arsenic, lead, tin, copper and iron content of canned clams, oysters, crabs, lobstars, and shrimps». *Canadian Journal of Research*, Vol. 28, Section F., Technology, núm. 6, pg. 199, June 1950.

rie de metales que no ocupan lugar de preferencia entre los estudiados por NODDACK tienen factores de enriquecimiento muy pequeños y parecidos entre sí, con un valor alrededor de 1.000. El segundo factor lo estimamos hasta ahora de difícil comprobación.

4.ª Se observa alguna variación en los valores obtenidos en el agua de mar y una constancia casi absoluta (dentro de ciertos límites) para los números de los mejillones. Lo que nos indicaría que esta constancia del contenido de plomo en el animal no depende exclusivamente de la concentración del metal en el medio ambiental.

Por otra parte, y a la vista de estos resultados, estimamos que esta clase de moluscos probablemente no tienen facultad acumulativa para el plomo, ya que de serlo así, su contenido variaría en proporción a la variación en el agua de mar.

5.ª La técnica seguida es relativamente sencilla y la consideramos de una sensibilidad aceptable para esta clase de determinaciones.

RESULTADOS OBTENIDOS

Operac. núm.	Procedencia	Fecha	Agua mar. capturada a tres metros de profundidad Pb mgr./m³	Contenido en Pb del mejill. mgrs /kg. sobre M. seca	Contenido en Pb del mejill. mgrs /kg. sobre M.ª fresca	Factor de enriquecimiento del mejillón frente al agua del mar
1	Ríos	5- 2-55	9,10	0,150	0,011	17
2	Ribera del Berbés	15- 2-55	7,00	0,250	0,020	35
3	Domayo	1- 3-55	9,25	0,156	0,031	16
4	Louredal	11- 3-55	5,50	0,230	0,044	42
5	St XX	15- 3-55	6,50	—	—	—
6	Coya	25- 3-55	4,00	0,240	0,060	60
7	San Adrián	5- 4-55	6,35	—	—	—
8	Rande	12- 4-55	9,75	0,283	0,066	29
9	Dársena Náutico.	3- 5-55	7,50	0,269	0,055	36
10	Coya	10- 5-55	6,75	0,321	0,072	48
11	Meira	24- 5-55	6,75	0,267	0,060	40
12	Ribera del Berbés	7- 6-55	6,75	0,286	0,057	42
13	Domayo	14- 6-55	6,62	0,187	0,045	28
14	Dársena W. Pto. Pesquero	28- 6-55	7,00	0,314	0,067	44
15	Pto. Bayona... ...	15- 7-55	6,25	0,359	0,075	57
16	Canabal	18- 8-55	6,25	—	—	—
17	Rande...	20- 9-55	5,75	0,260	0,071	45
18	Rande...	23- 9-55	—	0,232	0,065	—

Factor medio de enriquecimiento = 38,5

DETERMINACION COLORIMETRICA DEL GLUCOGENO EN EL MEJILLON (*Mytilus edulis*)

por

José Ramón Besada Rial y Lorenzo Rodríguez Molíns

Número 85 Diciembre de 1957

José Ramón Iriarte Vial y Lorenzo Rodríguez Molina

DETERMINACION COLORIMETRICA DEL GLUCOGENO EN EL MEJILLON (*Mytilus edulis*)

Los hidratos de carbono contenidos en los animales están representados en una gran proporción del total de los mismos por el glucógeno. Esta sustancia constituye un alimento de reserva y es citado por muchos autores en la sistemática de la determinación de los hidratos de carbono por su gran significado en la vida animal, ya que la energía consumida por un organismo es proporcionada, la mitad por los elementos hidrocarbonados y la otra mitad por la suma de lípidos más prótidos.

La cantidad de glucógeno en un organismo animal se reparte entre el hígado y los músculos, así como en la mayor parte de los tejidos, como reserva energética.

El origen del glucógeno hepático es múltiple, tal como de glúcidos, alcoholes derivados de éstos y de sustancias derivadas de las triosas, etc. En cambio, el glucógeno muscular procede de la glucosa sanguínea.

Su constitución es la de un almidón sencillo, comparable a una dextrina o a cualquier producto de degradación del almidón.

Junto con el glucógeno se encuentra el galactógeno, de constitución semejante, diferenciándose solamente en el azúcar componente, que es la galactosa en lugar de la maltosa.

El aspecto más importante de la bioquímica de los glúcidos y su principal interés como alimento, es la de su evolución energética, ya que, como dijimos antes, una mitad de la energía consumida por un organismo es proporcionada por los alimentos hidrocarbonados.

Esta energía es utilizada de un modo inmediato en la contracción

muscular, lo que no sucede con la procedente de otras sustancias, tales como los prótidos y lípidos.

Por todo lo expuesto, se desprende claramente la importancia que tiene el conocimiento del contenido en glúcidos de los alimentos por su significado energético. Por ello, desde hace tiempo, y por muchos autores, se ha procedido a su estudio y contenido cuantitativo de los mismos.

Al determinar la riqueza en hidratos de carbono de los alimentos, por diferencia a 100 (método adoptado oficialmente por los técnicos de la FAO), después de determinadas la humedad, grasa, proteínas y cenizas, nos da, como es lógico, el contenido total de los mismos, encontrándonos el interesante problema de la determinación cuali y cuantitativa de los que integran esta cantidad total.

En muchos casos, la casi totalidad de los hidratos de carbono la constituye el glucógeno; de ahí que para este trabajo nos fijáramos principalmente en él y tratásemos de buscar una técnica que nos permitiera valorarlo con la rigurosidad necesaria y con la rapidez suficiente, sin que por ello perdiera de su exactitud.

Entre los muchos métodos que se describen en los tratados de análisis figuran, entre otros, los de PFLÜGER, MAYERHOFFER y POLENSKE, FOLIN y WU, MUNSON y WALKER, ALLIHN, CRECELIUS-SEIFERT, FEHLING y otros.

Estos métodos, que no hemos seguido debido a su laboriosidad, tienen todos en común la separación del glucógeno por su insolubilidad en el alcohol etílico absoluto. Hemos aprovechado esta propiedad en nuestro trabajo, destruyendo previamente la masa del cuerpo del animal por medio de sosa cáustica al 30 por 100, ya que el glucógeno permanece inalterable a la acción de los álcalis.

Un factor importante que hay que tener en cuenta al hacer la determinación es que no debe demorarse la preparación de la muestra a valorar, una vez capturados los animales, puesto que hemos podido observar que, como es natural, los resultados obtenidos son más bajos si se dejan en el laboratorio los animales capturados de un día para otro. Esto es debido, sin duda, a procesos de desdoblamiento que sufren los hidratos de carbono por la acción de enzimas y fermentos.

Método adoptado

El método seguido por nosotros para la determinación del glucógeno consiste, en esencia, en la disgregación del cuerpo del animal por medio de la sosa cáustica, insolubilización del glucógeno por el alcohol etílico anhidro y purificación del mismo por lavados con alcohol; a continuación, la separación del glucógeno por medio del agua, y por último, hidrólisis del mismo para transformarlo en dextrosa, y valoración subsiguiente con ácido pícrico por comparación con una solución patrón de dextrosa al 1 por 100.

El fundamento de la determinación colorimétrica del método adoptado, ya utilizada por otros autores para la determinación de la glucosa en materiales biológicos, se basa en la conocida propiedad que tienen las soluciones de ácido pícrico de que, cuando se calientan con una de glucosa en medio alcalino, se produce ácido picrámico, sustancia que tiene una intensa coloración roja.

Por la intensidad de la coloración se puede deducir la cantidad de glucosa existente, operando en condiciones determinadas.

Muchos constructores han confeccionado pequeños colorímetros para practicar fácilmente la determinación. De entre todos ellos, hemos elegido el colorímetro de Hellige por su fácil manejo y poco coste, así como por la rapidez de la determinación, circunstancia que hay que tener en cuenta muy especialmente, sobre todo cuando se han de practicar muchas determinaciones. Debe procurarse que éstas se hagan siempre en idénticas condiciones, ya que de no ser así podrían surgir variaciones en la intensidad del color, lo que indefectiblemente nos llevaría a resultados erróneos.

Descripción del método

El método seguido es el siguiente. Los mejillones capturados, una vez en el laboratorio, se abrieron para extraerles su cuerpo entero y se pusieron a escurrir sobre una placa de porcelana horadada. Una vez escurridos, se picaron en una máquina de picar carne hasta conseguir hacer una pasta, de la cual se tomaron unos 10 gr., que se pasan a un vaso de 400 ml. de capacidad; se agregan de 10 a 20 ml.

(dos ml. por gramo) de solución de hidróxido sódico al 30 por 100, exenta de carbonato, se tapa con unas cajas de Petri y se digiere sobre un baño de vapor que se encuentra a unos 80° C., revolviendo de vez en cuando, durante treinta minutos, deshaciéndose los grumos que pueden formarse por medio de una varilla de vidrio.

Se añaden seguidamente 10 ml. de agua, mezclándola íntimamente con la masa desintegrada ; se agregan 135 ml. de alcohol absoluto, revolviendo solamente lo necesario para hacer íntima la mezcla. Se tapa, dejándola sedimentar a la temperatura ambiente durante doce horas. El líquido sobrenadante se decanta sobre un filtro colocado en un embudo estriado.

Se lava cuatro veces por decantación con porciones de 75 ml. cada una de alcohol etílico al 66 por 100 (2 : 1), pasándose el precipitado al filtro y lavándolo dos veces más con etanol.

A continuación se procede a cerrar, con un trozo de tubo de goma y unas pinzas de presión, la extremidad del embudo, el cual se llena de agua caliente y se deja en reposo durante doce horas, al cabo de las cuales se abren las pinzas, dejando escurrir la solución a un vaso de precipitados de unos 250 ml. Se cierran de nuevo las pinzas y se llena el embudo con agua caliente, como se hizo anteriormente, dejándolo en reposo solamente una hora, volviéndolo a escurrir seguidamente. Este tratamiento debe repetirse todas las veces que sea necesario hasta que el filtrado, que al principio es turbio, se presente límpido ; no obstante, deben limitarse los lavados hasta unos 175 ml. como total de la solución.

Se añaden 12,5 ml. de ácido clorhídrico concentrado, se mezcla y se calienta en un baño maría hirviente durante cuatro horas ; debe procurarse que la solución tenga una temperatura superior a 92° C. Como la pérdida por evaporación durante esta fase de hidrólisis es bastante grande, conviene, de vez en cuando, añadir agua caliente a la solución a hidrolizar para que al final queden unos 150 ml.

Se deja enfriar, y una vez frío se procede a su neutralización con solución de hidróxido sódico al 20 por 100, empleando como indicador el papel universal Merck. Se vuelve a enfriar, se pasa a un matraz aforado de 200 ml., enrasando con agua destilada, y a continuación se determina la dextrosa conforme a la técnica del ácido pícrico.

Técnica del ácido pícrico

Se toman dos ml. de solución de dextrosa al 1 por 100, conservada con tolueno, y se diluyen a 20 ml. en un tubo de ensayo grande. Se añaden 10 ml. de solución de ácido pícrico al 1,2 por 100 y dos ml. de hidróxido sódico al 20 por 100, y se agita.

Cinco ml. de problema se diluyen igualmente a 20 ml. en un tubo de ensayo grande y se someten al mismo tratamiento que el patrón.

Se introducen ambos tubos de ensayo en un baño maría hirviente durante cinco minutos, contados exactamente con reloj, tomando el líquido un color rojizo oscuro; seguidamente se retiran y se introducen en un baño de agua fría, y una vez fríos, se procede a su valoración con el colorímetro de Hellige.

Para ello, la solución patrón se introduce en el tubo-cuña grande del colorímetro, y el problema en la cubeta pequeña. Se hacen varias lecturas y se toma la media aritmética de todas ellas.

Para el cálculo se aplica la fórmula general siguiente:

$$X = c \frac{100-e}{100}$$

siendo c = concentración de la solución patrón, e = espesor de la solución patrón (lectura en la escala del colorímetro); 100 = espesor de la solución problema.

El resultado nos da el tanto por ciento en gramos de dextrosa, referido a carne comestible, valor que hay que multiplicar por el factor de conversión 0,9 para referirlo a glucógeno por ciento.

El método descrito fué comprobado por comparación con el método colorimétrico fosfowolfrámico de Folin y Wu, con molibdato y reducción del cobre para la determinación de la dextrosa, y con el de Fehling, obteniéndose siempre resultados concordantes. La ventaja de la técnica seguida por nosotros es la de que sin perder de su exactitud, se acorta considerablemente el tiempo necesario para su determinación.

También obtuvimos resultados concordantes, dentro de los límites de error tolerable (errores debidos, a nuestro juicio, a la impre-

cisión relativa de las lecturas con el colorímetro de Hellige), al comparar los obtenidos con los resultantes de determinar la concentración del líquido conteniendo la dextrosa por medio del polarímetro.

Hemos empleado para esta comprobación un polarímetro de limbo Zeiss-Winkel, de sensibilidad 0,05°, con visual de ocular oblicua, de foco luminoso monocromático (luz de sodio) montado interiormente, cedido para este objeto por el Director del Laboratorio Municipal de Higiene, de Vigo, nuestro compañero don Rafael López Costa.

Cálculo de su valor energético en calorías

Para la determinación del valor energético de los hidratos de carbono, lo ideal sería quemarlos en un calorímetro, con lo que obtendríamos el valor total de su combustión ; pero el resultado que nos diera, y que sería su valor calorífico, no sería el verdadero valor de su energía fisiológica, ya que, como sabemos, no todo el producto es completamente digerido por el organismo, y además, que la fracción digerida puede no ser quemada íntegramente. De ahí que para su cálculo tengamos que recurrir a unos coeficientes que nos den dicho valor.

Nosotros hemos empleado para el cálculo del mismo el coeficiente 3,87 de Atwater, por ser entre otros (Mc Cance, Widdowson, Moran, Pringle y otros) el adoptado oficialmente por el Comité de la Dirección de Nutrición de la F. A. O.

Los resultados obtenidos se relacionan en el cuadro siguiente. Los porcentajes que en el mismo figuran van referidos a la porción comestible del animal.

Consideraciones finales

Todas las muestras que han sido objeto de este trabajo proceden de los distintos viveros flotantes de mejillones que se hallan instalados en diversos lugares de la Ría de Vigo. Se hace excepción de la muestra núm. 9, que ha sido recogida de un barco de casco de madera que se encontraba fondeado en la dársena del R. C. Náutico.

Al hacer este trabajo nos guió únicamente el deseo de poner en práctica un método cómodo que sirviese para la determinación del glucógeno contenido en los carbohidratos totales del mejillón. Por

ello hemos realizado un estudio lo más completo posible de los métodos reseñados, tomando de cada uno de ellos todo lo que nos pudiera ser útil para el fin deseado, creyendo haber conseguido nuestros propósitos con el presente trabajo, que creemos que, por extensión, puede ser aplicado a los demás moluscos.

INSTITUTO ESPAÑOL DE OCEANOGRAFÍA
Laboratorio de Vigo.

Muestra núm.	Fecha	Procedencia	Carne comestible %	Cabohidratos (total por diferencia) %	Glucógeno %	Relación HC/G (1)	Valor energético fisiológico de carbohidratos (2)	Valor energético fisiológico del glucógeno (3)
1	3-12-54	Ensenada de Rande ...	27,15	8,21	1,80	4,56	31,77	6,96
2	28-12-54	Ensenada de Coya... ...	21,93	5,64	2,58	2,18	21,82	9,98
3	25-1-55	Ensenada de Ríos	20,62	5,96	2,94	2,02	23,06	11,37
4	4-2-55	Ensenada de Ríos	22,68	6,14	1,80	3,41	23,96	6,96
5	1-3-55	Ensenada Domayo... ...	16,09	5,12	2,05	2,49	19,81	7,93
6	11-3-55	Ensenada Louredal.. ...	16,54	5,45	4,40	1,23	21,08	15,92
7	29-3-55	Ensenada de Coya... ...	13,46	6,11	2,38	2,56	23,64	9,21
8	12-4-55	Estrecho de Rande ...	23,67	4,95	3,12	1,58	19,15	12,07
9	3-5-55	Dársena Náutico	15,56	5,99	1,23	4,86	23,18	4,76
10	10-5-55	Ensenada de Coya ...	18,80	4,17	1,08	3,86	16,13	4,18
11	24-5-55	Playa Borna	29,30	6,17	1,87	3,30	23,87	7,23
12	8-6-55	Dársena Pto. Pesquero.	16,97	5,15	1,44	3,57	19,91	5,57
13	14-6-55	Ensenada Domayo... ...	28,40	7,48	2,81	2,66	28,94	10,87
14	27-6-55	Dársena Pto. Pesquero.	20,45	6,09	2,52	2,41	23,56	9,75
15	15-7-55	Puerto de Bayona... ...	19,84	5,12	1,95	2,62	19,81	7,54
16	18-8-55	Ensenada Canabal	21,26	6,97	1,73	4,02	25,96	6,70
17	29-8-55	Ensenada Domayo... ...	30,48	9,42	4,68	2,01	36,45	18,11
18	20-9-55	Estrecho de Rande ...	27,52	11,64	5,95	1,95	45,04	23,03
19	23-9-55	Punta Atravesada	27,94	11,22	6,19	1,81	43,42	23,96

(1) La relación HC/G representa el cociente de dividir los hidratos de carbono totales obtenidos por diferencia y el glucógeno obtenido a partir de los mismos.

(2) Los números que figuran en esta columna representan, en cal/gr, el valor energético, y se obtuvieron multiplicando el tanto por 100 de carbohidratos totales por el coeficiente de Atwater (3,87).

(3) Las cifras de esta columna se obtienen a partir del tanto por 100 de glucógeno por el coeficiente de Atwater, teniendo el mismo significado que la anterior.

CUADRO comparativo de los resultados obtenidos en la comprobación del método del ácido pícrico con el de Folin y Wu y el polarímetro

Muestra número	Fecha	Procedencia	Glucógeno % obtenido por medio del método de Pflüger y valoración con		
			Acieo pícrico	Folin y Wu	Polarímetro
1	3-12-54	Ensenada de Rande ...	1,80	1,77	—
2	28-12-54	Ensenada de Coya... ...	2,58	2,53	—
3	25-1-55	Ensenada de Ríos... ...	2,94	2,87	—
4	4-2-55	Ensenada de Ríos	1,80	1,84	—
5	1-3-55	Ensenada Domayo... ...	2,05	1,99	
6	11-3-55	Ensenada Louredal.. ...	4,40	—	4,12
7	29-3-55	Ensenada de Coya... ...	2,38	—	—
8	12-4-55	Estrecho de Rande ...	3,12	—	3,27
9	3-5-55	Dársena Náutico	1,23	—	—
10	10-5-55	Ensenada de Coya ...	1,08	—	—
11	24-5-55	Playa Borna	1,87	—	2,04
12	8-6-55	Dársena Pto. Pesquero.	1,44	—	—
13	14-6-55	Ensenada Domayo... ...	2,81	2,75	—
14	27-6-55	Dársena Pto. Pesquero.	2,52	—	2,38
15	15-7-55	Puerto de Bayona... ...	1,95	—	—
16	18-8-55	Ensenada Canabal	1,73	—	2,00
17	29-8-55	Ensenada Domayo... ...	4,68	—	4,43
18	20-9-55	Estrecho de Rande ...	5,95	—	—
19	23-9-55	Punta Atravesada	6,19	—	6,31

BIBLIOGRAFIA

BESNARD, W.: «Les produits d'origine marine et fluviale». Payot. Paris, 1948.

BÖMER, A., JUCKENACK, A. y TILLMANS, J.: «Handbuch der Lebensmittelchemie». T. III. Berlín, 1936.

CASARES GIL, J.: «Tratado de análisis químico». T. III. 5.ª ed. 1951.

EDLBACHER, S.: «Compendio de química fisiológica». Madrid, 1943.

F. A. O.: «Elementos nutritivos productores de energía en los alimentos y cálculo de los valores energéticos en calorías». Wáshington, mayo 1947.

FEARON, W. H.: «Introducción a la Bioquímica». Madrid, 1936.

Munchener Medizinische Wochenschrift, Publ. núm. 30, año 75, 1301, 1928.

SANDOZ, S. A. E.: «Capítulos escogidos de bioquímica general». Basilea.

TRESSLER, D. K. y LEMON, J. Mc W.: «Marine products of Commerce». New York, 1951.

VILLAVECCHIA, V.: «Química analítica aplicada». Barcelona, 1944.

WINTON, A. L. y WINTON, K. B.: «Análisis de alimentos». Buenos Aires, 1947

JACOBS, M. B.: «The chemical analysis of Foods and Food products». Philadelphia, abril 1951 (2.ª ed.).

DETERMINACION COLORIMETRICA DEL COBRE EN EL AGUA DE MAR Y EN EL MEJILLON (*Mytilus edulis*)

por

LORENZO RODRÍGUEZ MOLÍNS

Número 86 **Diciembre de 1957**

Lorenzo Rodríguez Molins

DETERMINACION COLORIMETRICA DEL COBRE EN EL AGUA DE MAR Y EN EL MEJILLON (*Mytilus edulis*)

Preliminares

El agua de mar contiene cobre entre los oligoelementos. Su cantidad por metro cúbico ha sido determinada por varios investigadores. Atkins, en 1948, estudió la variación estacional del mismo en aguas de Plymouth. Según este autor, el contenido del agua de mar es, por término medio, de 10 mg. de cobre por metro cúbico.

Teniendo en cuenta el poder de acumular dicho elemento que poseen los moluscos, y siendo, como es natural, la única fuente que del mismo tienen, el agua del mar, es lógico prever que su contenido estará relacionado con la variación estacional del cobre en el agua del mar.

La cantidad de cobre contenida en el agua del mar varía, según Riley (1937), a medida que nos alejamos de la costa. A 100 millas, las cantidades existentes en las capas superficiales son de cinco mg. de cobre por metro cúbico, mientras que las aguas profundas contienen de 10 a 11 mg. de cobre en el mismo volumen.

Trabajos realizados sobre el estudio de la concentración del cobre en el agua del mar llevaron a la conclusión de que si permanece baja se debe a que es fácilmente adsorbido, o a que se puede combinar en los organismos marinos y elementos detríticos, como se ha podido comprobar agitando un agua enriquecida previamente en cobre hasta una cantidad de 50 a 100 mg. por metro cúbico, conteniendo

organismos y restos orgánicos, observándose que disminuye notablemente su concentración ; y lo mismo sucedía si, en vez de organismos marinos, se tomaba limo marino. Por ello nos pareció problema de gran interés el conocer la riqueza del agua de mar en cobre en las proximidades de las localidades donde se extrajeran los animales objeto de estudio, para poder ver si se podían relacionar los contenidos de cobre en unos y otra.

Si comparamos con las de los terrestres, las concentraciones existentes en los seres marinos, vemos una diferencia notable, ya que en estos últimos es considerablemente alta. Este metal no es igualmente acumulado por todos los órganos de los animales, ya que si tomamos, por ejemplo, el *Bucinum undatum*, vemos que mientras las gonadas y el hígado contienen hasta 54,80 mg. por 100, el pie y el intestino no pasan de 0,55 mg. por 100.

Discusión del método

Para la determinación del cobre son muchos los micrométodos analíticos descritos, empleando en cada uno de ellos reactivos específicos capaces de detectar cantidades pequeñísimas del elemento, tales como : Método colorimétrico de Scott, Derby, con xantato (etil xantato potásico). Método volumétrico cromotrópico de Brenner (ácido cromotrópico). Método colorimétrico de Biazzo (con piridina-tiocianato). Método colorimétrico de Clark y Jones (con dioxima). Método colorimétrico del doctor Ricardo Montequi (con mercurisulfocianato amónico). Este método fué seguido por Golse, de Burdeos, en la determinación cuantitativa del cobre. Método colorimétrico de Callan y Henderson, que utilizan como reactivo el dietil-ditio-carbamato de sodio.

Pero sin lugar a dudas, ocupa lugar preferente entre todos los reactivos indicados el dietil-ditio-carbamato sódico, puesto que llega a detectar hasta una concentración límite del 1×10^{-11}.

Esta sustancia fué introducida en la determinación del cobre por Th. Callan y J. A. Russel Henderson, y es un reactivo de máxima selectividad y sensibilidad. Con las soluciones diluídas conteniendo cobre, produce al principio un color marrón, que poco a poco se convierte en precipitado, y que se reúne en el fondo de la vasija que lo contiene. Por eso conviene que la comparación de color no se

difiera muchas horas. Aún después de veinticuatro horas hemos obtenido resultados concordantes.

Este reactivo no es específico solamente del cobre, pues detecta también pequeñas cantidades de otros metales: con el hierro, de coloración parda; con el bismuto, amarilla, y con el aluminio, antimonio, cadmio, plomo, estaño, mercurio y cinc, turbideces blancas.

Reactivos necesarios y su preparación

Solución valorada de sulfato de cobre con cinco moléculas de agua. El sulfato de cobre era de la Casa Kalbaun; se recristalizó, y los cristales reducidos a polvo muy fino, en mortero de ágata, los desecamos entre papel de filtro durante cuatro días.

Solución A. Se pesan exactamente 4,91 gramos del mismo, se disuelven en un matraz aforado de 500 ml. con agua destilada.

Solución B. Se toman exactamente con una pipeta cinco ml. de la solución A, se vierten en un matraz aforado de 250 ml., diluyendo hasta el enrase. Un ml. de esta solución B contiene 0,05 mg. de cobre, o sean 50 gammas.

Solución normal de fosfato disódico.

Solución de amoníaco concentrado, d = 0,910.

Solución de ácido nítrico. Se preparó una solución 2N.

Solución de dietil-ditio-carbamato sódico. Se prepara una solución acuosa al 0,5 por 100.

Solución concentrada de ácido clorhídrico, d = 1,19.

Solución de citrato amónico al 25 por 100.

Descripción del método seguido por Picotti y Baldassi en las aguas de los ríos de Istria, adaptado para la determinación del cobre en moluscos y en agua de mar

Nosotros hemos realizado la incineración de los mejillones en cápsula de cuarzo en lugar de la de platino que emplearon los citados autores, así como la determinación colorimétrica final se verificó en campanas Henner en lugar del fotocolorímetro Pulfrich.

Con relación a la preparación de la muestra de agua de mar, Picotti y Baldassi emplean un tratamiento en un aparato especial, con corriente de CO_2 para evitar sacudidas molestas. Nosotros simplifica-

mos el método adicionándole a la muestra de agua de mar una mezcla de HCl y citrato amónico, según se detalla al describir el método al aplicarlo al agua del mar.

El método seguido es el siguiente : Los mejillones, una vez llegados al laboratorio, se abrieron para extraerles su cuerpo entero, y se pusieron a escurrir sobre una placa de porcelana horadada ; una vez escurridos, se picaron en máquina hasta reducirlos a una papilla. De ella se toma una parte y se incinera en cápsula de cuarzo, a una temperatura de 500° C., obteniendo unas cenizas blancas con ligeras manchas de color dorado.

Las cenizas, y en la misma cápsula, se tratan con 30 c. c. de ácido nítrico 2N ; con objeto de disolverlas, se añaden 50 c. c. de agua y se calienta a baño maría a unos 60-80° C. durante una hora. Se le adiciona un poco más de ácido nítrico (1 a 2 c. c.) y se hierve durante un rato, obteniéndose un líquido ligeramente pardo y claro, y quedando un residuo insoluble. Se pasa el líquido con el residuo a un matraz aforado de 250 c. c., enrasando con agua destilada. Se toman 100 c. c., que se ponen en un Erlenmeyer de 500 c. c., se le añade amoníaco concentrado hasta reacción alcalina y seguidamente 20 c. c. de una solución de fosfato disódico normal, formándose abundante precipitado ; se hierve durante un corto tiempo para conseguir una buena precipitación, se deja enfriar y una vez frío se filtra, desechando el precipitado.

Al líquido recogido se le adicionan cuatro c. c. de solución de dietil-ditión al 0,5 por 100, se pasa a una ampolla de decantación y se le adicionan 20 c. c. de acetato de etilo, se agita fuertemente durante unos minutos, se deja reposar y se separa la capa coloreada. El líquido recogido se trata nuevamente con otros 20 c. c. de acetato de etilo, repitiéndose la operación anterior el número de veces que sea necesario hasta que no se extraiga más color.

La parte extraída conteniendo el color se pasa a unas campanas Henner, completando su volumen a 100 c. c. y se hace la lectura por la comparación de color contra una solución tipo, preparada a partir de una solución de sulfato de cobre con cinco moléculas de agua.

Esta solución tipo se prepara de la siguiente manera : Se toman dos c. c. de solución patrón de sulfato de cobre, conteniendo 100 gammas de cobre y se le añaden dos c. c. de amoníaco concentrado y cuatro c. c. de solución de dietil-ditión al 0,5 por 100, extrayéndose el color en la forma descrita anteriormente ; se completa el volumen recogido en las campanas Henner, hasta 100 c. c. con acetato de etilo,

y se practica la lectura. Los resultados obtenidos se relacionan en el cuadro siguiente :

CUADRO I

Fecha	Muestra número	Procedencia	Carne comestible %	Humedad %	Gramos de Cu en 100 gramos de carne comestible	Mgrs. de Cu en 100 gramos de sustancia seca
25-1-55	1	Ensenada de Ríos	20,62	79,48	0,000227	1,10
4-2-55	2	Ensenada de Ríos	22,68	81,21	0,000240	1,20
26-2-55	3	Casco barco madera en Dársena C. Náutico...	20,00	80,00	0,000600	3,00
1-3-55	4	Ensenada de Domayo...	16,09	80,29	0,000198	1,00
11-3-55	5	Estrecho de Rande... ...	16,55	81,00	0,000217	1,10
29-3-55	6	Ensenada de Coya... ...	13,46	75,02	0,000080	0,35
12-4-55	7	Estrecho de Rande... ...	23,67	76,70	0,000225	1,62
3-5-55	8	Dársena C. Náutico. ...	15,56	79,60	0,000233	1,24
10-5-55	9	Ensenada de Coya... ...	18,80	77,60	0,000037	0,16
24-5-55	10	Borna (Meira)	29,30	77,55	0,000100	0,45
7-6-55	11	Dársena W. del Berbés.	16,97	79,93	0,000100	0,49
14-6-55	12	Ensenada de Domayo...	28,40	76,00	0,000097	0,40
28-6-55	13	Dársena Pto. Pesquero..	20,45	78,55	0,000035	0,16
15-7-55	14	Puerto de Bayona	19,84	79,13	0,000043	0,20
18-8-55	15	Ensenada de Canabal	21,26	76,70	0,000100	0,42
29-8-55	16	Ensenada de Domayo...	30,48	74,10	0,000060	0,23

Aplicación del método al agua del mar

Para la determinación del cobre en el agua del mar se sigue la técnica ya descrita, preparando la muestra de la siguiente manera : Se capturan dos litros de agua de mar con una botella especial para este efecto ; se echan en un matraz de tres litros de capacidad, y por ebullición se reduce su volumen a 400 c. c., adicionándole previamente 10 c. c. de ácido clorhídrico concentrado y 15 c. c. de citrato amónico al 25 por 100. Con esto se evita la formación de precipitado de los metales alcalinos que se formarían al concentrar el agua.

Una vez fría, se echa el agua de mar así tratada en un matraz aforado de 500 c. c., completando con agua destilada hasta el enrase.

Se toman 100 c. c. de esta agua y se sigue la técnica ya descrita, es decir, se alcaliniza con amoníaco, se añade fosfato disódico, se hierve, se filtra, se añaden cuatro c. c. de dietil-ditión, se extrae el

color con acetato de etilo y se hace la comparación con campanas Henner.

Los resultados obtenidos se relacionan a continuación :

CUADRO II

Fecha	Muestra número	Procedencia	Mgrs. Cu/m³
10-5-55	1	Ensenada de Coya... ...	20,0
24-5-55	2	Borna (Meira)	17,5
7-6-55	3	Dársena W. Berbés... ...	22,5
14-6-55	4	Ensenada de Domayo...	17,5
15-7-55	5	Puerto de Bayona	22,0
18-8-55	6	Ensenada de Canabal...	20,0

La solución de acetato de etilo debe valorarse antes que en el dietil-ditión-cobre suspensión aparezcan fenómenos de precipitación o aglutinación. Según Farlane, la solubilidad del dietil-ditión-cobre en el alcohol amílico alcanza 15 gammas por cada 10 c. c., de ahí que no sea aconsejable diferir varias horas la comparación del color. Por eso y para evitar estos inconvenientes debe prepararse una verdadera solución de la sal de cobre ; de ahí la importancia que tiene la elección del disolvente.

Nosotros hemos conseguido preparar una solución tipo que contiene 100 gammas en 100 ml. de acetato de etilo, y que aún después de un mes, se conservaba límpida y transparente sin que se formase precipitado alguno, haciendo con ella valoraciones que coincidían con las efectuadas con otro tipo de igual concentración y preparado en el día.

El acetato de etilo empleado ha sido destilado dos veces, para eliminar las posibles impurezas coloreantes que pudieran contener ácido acético y agua. Para ello, el éter acético fué agitado en una ampolla de decantación con agua, y después de recogido fué destilado ; para eliminar las porciones de agua que pudiera contener, se le añadió un poco de cloruro cálcico y carbonato magnésico.

Una vez terminadas las colorimetrías, el disolvente se recupera por destilación, sometiéndole al tratamiento de limpieza ya descrito.

Al realizarse la determinación, debe emplearse la más extrema

limpieza y la máxima igualdad en todos los tratamientos, ya que de no ser así pueden producirse acentuaciones de color que nos induzcan a error.

La cantidad de dietil-ditión que se debe emplear es, según Picotti y Baldassi, de dos ml. al 0,5 por 100, cuando el contenido de cobre no sobrepase las 100 gammas, y para cantidades mayores de cobre, de cuatro a seis ml.

Consideraciones finales

Por todo lo expuesto, creemos haber conseguido poner a punto un método rápido y cómodo, a la vez que económico, para la determinación del cobre, tanto en el agua del mar como en los moluscos.

La sencillez de la determinación hace que pueda realizarse incluso en aquellos laboratorios que cuenten con pocos medios.

En cuanto a la relación que pueda tener el contenido de cobre con la biología del mejillón, está siendo objeto de estudio en un trabajo que se está llevando a cabo en este Laboratorio sobre su composición, a lo largo de un ciclo anual.

Instituto Español de Oceanografía
Laboratorio de Vigo

BIBLIOGRAFIA

WINTON, A. L. y WINTON, K. B.: «The Analysis of Food». Traducción al castellano. Editorial HASA. Buenos Aires, 1947.

MC CANCE, R. M. y SHACKLETON, L. L. B.: «The Metallic constituents of Marina Gastropoda». Journ. Mar. Biol. Assoc. 22 (1), 269-71.

RIBAS MARQUÉS, I.: «El pescado como alimento. Los bioelementos del pescado». ION, Vol. IV, núm. 39, 663-668, 1944.

GRUZEVSKA: «Le dosage du cuivre dans les organes». *Ch. Ind. 36* (3) 493, 1936.

HUBBARD, D. y SPETTEL, E.: «Microdeterminación del cobre en materias biológicas». *Analyt. Chem.* 25, 1245-1247, 1953.

JEWSBURY, A.: «Determinación del cobre con dietil-ditio-carbamato sódico en presencia de níquel y otros elementos que interfieran». *Analyst*, 78-363, 1953.

ATKINS, W. R. G.: «The seasonal variation in the copper content of Sea water». *Jour. Mar. Biol. Assoc.*, 31, 3, 493-494. Cambridge, 1953.

SANTOS RUIZ, A. y DEAN, M.: «Oligoelementos respiratorios». ION, Vol. VIII, número 83, 393, 1948.

BESNARD, W.: «Produits d'origine maritime et fluviale». Paris, 1948.

DICK, J. y PUGSLEY, L. I.: «The arsenic, lead, tin, copper and iron content of canned clams, oysters, crabs, lobsters and shrimps». *Canadian Journal of Research*, Tomo 28, Sección F, Tecnología núm. 6, pág. 199, junio 1950.

TRESSLER, D. K. and LEMON, J. McW.: «Marine products of Commerce». Nueva York, 1951.

HARVEY, H. W.: «Chimie et Biologie de l'eau de mer». Paris, 1949.

NODDACK, I. und NODDACK, W.: «Die Häufigkeiten der Schwermetalle in Meerestieren». *Arkiv för Zoologi*, 32, 1, 1, 1940.

FEARON, W. R.: «Introducción a la Bioquímica». Espasa-Calpe. Madrid, 1936.

PICOTTI, M. und BALDASSI, G.: «Mikroanalyse des Kupfers und seine Bestimmung in einigen Gewässern und Wassertieren der Venezia Giulia». *Mikrochemie vereinigt mit Mikrochimicaacta*. Band XXX, Heft 1-2. Wien, 1942.

B. D. H.: «Book of Organic Reagents». Dorset, 1949.

ESTUDIOS QUIMICOS SOBRE EL MEJILLON (*Mytilus edulis*) DE LA RIA DE VIGO

por

LORENZO RODRÍGUEZ MOLÍNS y JOSÉ RAMÓN BESADA RIAL

Número 87 **Diciembre de 1957**

Viveros flotantes de mejillon
VIGO
RIA DE VIGO
CANGAS
BOUZAS

Fig. 1

Lorenzo Rodríguez Molíns y José Ramón Besada Rial

ESTUDIOS QUIMICOS SOBRE EL MEJILLON (*Mytilus edulis*) DE LA RIA DE VIGO

Consideraciones generales

Es muy grande el desarrollo e importancia que alcanza la mitilicultura en España, y en especial en Galicia, de la que podemos decir que es rara la ría en la que no se encuentren varios viveros flotantes para la cría del mejillón, no sólo para ser consumido en fresco, sino que, como producto muy apreciado por la industria conservera, que ve además en él un medio de no aminorar el ritmo de su producción debido a la ausencia temporal de otras especies, constituye un importante factor de riqueza, dentro de la economía nacional, de los productos extraídos del mar.

La gran demanda de este molusco por los mercados del interior, entre los cuales se extiende cada vez más su consumo, y la gran atención que a su cría presta la industria conservera, nos llevó a pensar que sería conveniente el realizar un estudio de la citada especie (*Mytilus edulis*) a lo largo de un ciclo anual, con objeto de conocer no solamente su composición química, sino la de determinar su valor energético como alimento y su grado de digestibilidad.

La producción anual del mejillón lleva una marcha ascendente, lo que prueba, como decíamos antes, la gran aceptación que esta especie obtiene en el mercado.

Los datos que a continuación se exponen son recogidos de las es-

tadísticas oficiales y corresponden a los años comprendidos entre 1940 y 1954, ambos inclusive.

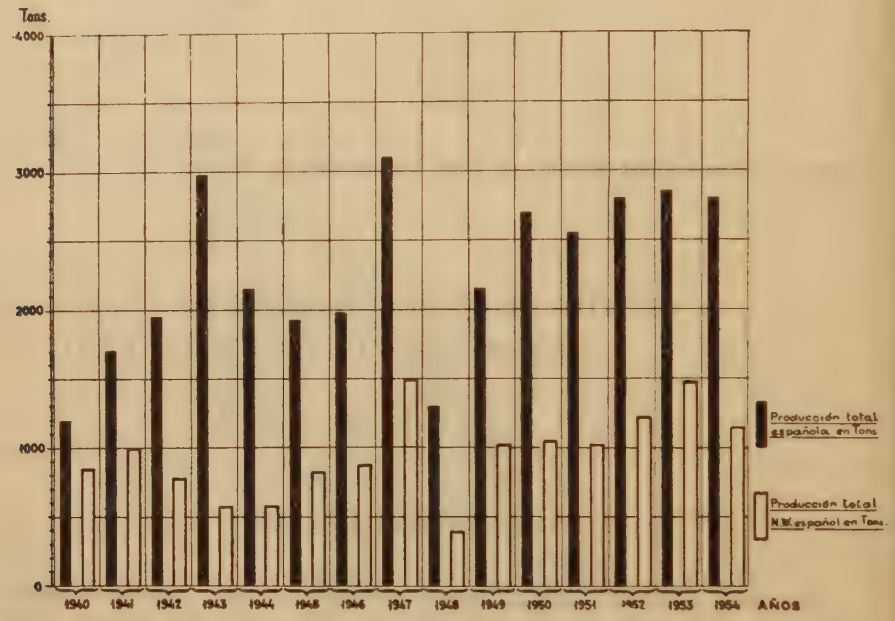

Fig. 2

Producción anual de mejillón en la región NW (Galicia) en comparación con la total de España.

En el gráfico anterior queremos hacer resaltar la importancia de la mitilicultura en Galicia con relación a la producción total española, aun cuando la producción en nuestra región, al igual que la de toda España, está íntimamente relacionada con la abundancia de pesca de otras especies, principalmente con las que se destinan a la industria conservera.

Teniendo en cuenta el valor medio del precio del kilogramo del mejillón, en seguida se nos alcanza ver el importante significado que tiene su cría para nuestra economía, ya que proporciona al pescador modesto un ingreso que le permite atender a sus necesidades más perentorias en épocas de escasez o cuando las circunstancias le impidan salir a la mar.

La importancia de este problema ha sido prevista y estudiada por las autoridades competentes, y así vemos cómo en la provincia

de La Coruña y en la zona de Baldayo, a petición de las autoridades de Marina, Instituto Social de la Marina y Sindicato de la Pesca, proyectan habilitar unas parcelas destinadas a la cría de moluscos, para mitigar de esta forma la falta de recursos de los pescadores de bajura y mariscadores. Estas instalaciones y viveros fueron informados por el personal científico del Instituto Español de Oceanografía.

La producción anual, expresada en pesetas, se expone en el gráfico siguiente :

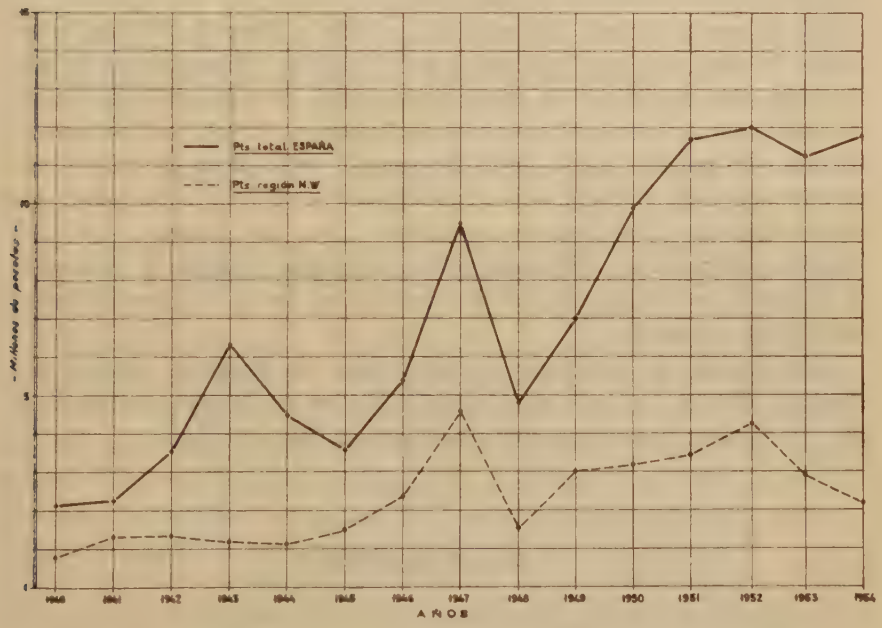

Fig. 3

Valor en pesetas de la producción anual de mejillón. Total en España y en la región Noroeste (Galicia)

Circunscribiéndonos a la Ría de Vigo, viendo el crecidísimo número de balsas que para la cría de los mismos existe, no se nos puede ocultar la gran importancia que la mitilicultura tiene en esta ciudad.

El número de viveros flotantes existentes en las aguas de la Ría es, aproximadamente, el de unos cincuenta, cifra que está en con-

tinuo aumento, y su distribución es totalmente irregular, siendo el lugar de mayor densidad de viveros el situado en el estrecho de Rande y ensenadas de la parte norte, a partir de Punta Borna hacia el interior, cuyas aguas tienen una salinidad media de 35 por 1.000 y unas temperaturas que oscilan entre 12,5° y 21,5° C.

Esta salinidad media y debido a veces al régimen de lluvias, se encuentra fuertemente disminuída, llegando a convertirse las aguas del fondo de la Ría en salobres, ocasionando una gran mortandad en los viveros, como ha sucedido recientemente, cuando quedaron los de toda esta demarcación totalmente arruinados por la mortandad causada por el descenso de salinidad.

El origen de la cría del mejillón se debe a Patrick Walton, náufrago irlandés en los alrededores de Aiguillón (Francia) en el año de 1235, que lo cultivó en estacas verticales entrelazadas por algas, colocadas en la playa al nivel de la bajamar. Pronto se fué extendiendo este método por la costa francesa, y más tarde su cría se extiende por toda Europa con gran éxito (1). En la actualidad, los países europeos que figuran en primer lugar de consumo son (2): Francia, Dinamarca, Holanda, Gran Bretaña, Irlanda y Noruega, y después, en mucha menor proporción, en todos los demás países marítimos europeos.

En España se establecen en Barcelona los primeros viveros flotantes a finales del siglo XIX, y en Galicia se inicia este cultivo en la Ría de Arosa, pasando a continuación a la Ría de Vigo.

Toma de muestras

Las muestras recogidas para nuestro trabajo se tomaron todas ellas de las cuerdas de cada uno de los viveros elegidos previamente, unas veces seleccionando ejemplares grandes, otras de cría, y la mayor parte de las veces una muestra media, con objeto de ver si se podían observar algunas diferencias en su composición química.

También se han tomado muestras de mejillones adheridos a cascos de barcos de madera fondeados en la dársena, y en las paredes de los muelles del puerto, a fin de ver si existían diferencias.

---

(1) Herdman, W.: «Founders of Oceanography». London, 1923.
(2) Besnard, W.: «Les produits d'origine marine et fluviale». París, 1948.

Hemos procurado darle a este trabajo la duración de un año, con objeto de ver la influencia de los períodos estacionales, así como también hemos preferido recoger las muestras de las diversas balsas situadas a lo largo de la Ría en vez de elegir los de una sola, con objeto de hacer así el estudio medio de la especie que en la misma se cría.

En un principio pensamos estudiar separadamente los ejemplares de ambos sexos, pero después hemos decidido que, como al consumirlos, ya sea en fresco o en conserva, no hay una selección previa de los individuos, nos ajustábamos más a nuestro propósito haciendo el estudio sobre una muestra media.

Las balsas de las que nos hemos servido para nuestro estudio son las señaladas con un círculo en la adjunta carta de la Ría.

Tratamiento y distribución de las muestras

En cuanto llegan los mejillones al Laboratorio, una vez eliminadas las partículas térreas que les acompañan, así como las algas a ellos adheridas, se procede a pesar tres kilogramos, cantidad de la cual hemos partido para todas las determinaciones; se abren cuidadosamente, procurando no dejar adherida a su cuerpo ninguna porción de concha (lo que falsearía los resultados obtenidos), y se dejan escurrir sobre una placa de porcelana perforada durante un corto tiempo. Una vez limpios y escurridos, se pasan a un vaso de vidrio previamente tarado y se pesan, con objeto de hallar su porcentaje de carne comestible, y en su consecuencia, el de desperdicios.

La carne de los mejillones contenida en el vaso se reduce a una pasta lo más fina posible en una máquina de picar carne, recogiendo la pulpa obtenida en un recipiente grande, donde se procura homogeneizarla totalmente.

De ella tomamos las porciones siguientes:

1.ª Dos porciones de diez gramos cada una, pesadas en vasos de precipitados de 400 ml., para la determinación del glucógeno.

2.ª Tres porciones para determinación de cenizas. Cada una de estas porciones se recoge y pesa en su correspondiente cápsula de cuarzo, en cada una de las cuales se ponen las siguientes cantidades:

a) En una cápsula se ponen 100 g. de la pasta de mejillón, y su contenido, después de incinerado, lo empleamos para la determinación del cobre, plomo y calcio en medio nítrico.

b) En otra cápsula ponemos otros 100 g. sirviéndonos, al igual que la anterior, para determinaciones del hierro, calcio y fosfatos en medio clorhídrico.

c) En la tercera cápsula ponemos unos 50 g. de pulpa, empleando ésta para la determinación de cenizas totales, solubles e insolubles, así como para determinar los cloruros, por extracción de éstos con agua hirviente.

3.ª Otras dos porciones son recogidas en cajas de Petri, previamente taradas, para determinar en ellas, primero, la humedad y, posteriormente, grasa y proteínas.

Métodos seguidos para las determinaciones químicas

Composición inmediata

Humedad.—Se practicó en la forma acostumbrada.

Cenizas.—Para esta determinación se partió de la sustancia fresca, que se desecó primeramente a 100° C. y seguidamente se incineró en mufla a 500° C.

Grasa.—De los métodos generales existentes para esta clase de determinaciones hemos seguido el de extracción continua con éter y no el de saponificación, ya que con el primero conseguíamos nuestro objeto, que era el de una extracción completa de todas las grasas existentes en el mismo para así poder aplicar los coeficientes de Atwater para la determinación de su valor energético.

Para su determinación hemos partido de la sustancia desecada y finamente pulverizada, factor éste de gran importancia para conseguir una extracción completa.

Proteínas.—Se empleó para su determinación el método de Kjeldahl a partir de la sustancia desecada y desengrasada, empleando como catalizador el selenio.

Para la valoración del nitrógeno en el destilado de la sustancia kjeldahlizada hemos empleado como indicador el rojo de metilo, y para su conversión en proteínas el factor 6,25.

Hubiéramos querido expresar el contenido proteínico de la carne del mejillón en ácidos aminados, por ser así más correcto el número

que se obtuviera ; pero por no tener terminados los estudios que con este objeto estamos realizando en este Laboratorio de Vigo sobre este particular, tuvimos que expresarlo con arreglo al método clásico, con la inseguridad de que el mismo adolece, ya que, como sabemos, no todas las proteínas poseen la misma cantidad de nitrógeno, y que, además, también puede haber nitrógeno no proteínico en la determinación global, y de ahí el tener que emplear el factor general 6,25 antes indicado.

Hidratos de carbono.—(Por diferencia). Hemos procurado, en primer término, la determinación de estos hidratos de carbono por diferencia a 100 de la suma de los valores obtenidos en las determinaciones de humedad, cenizas, grasa y proteínas. El número así encontrado tiene gran valor en la estimación del valor nutritivo de los alimentos, pero si quisiéramos conocer su importancia desde el punto de vista fisiológico, sería necesario conocer qué fracción rinde sustancias glucogénicas de entre todos los hidratos de carbono hallados.

Hemos procurado seguir, en la determinación total de los mismos, las indicaciones del Comité de Alimentación de la FAO, que da para la determinación de estas sustancias, al considerar como «hidratos de carbono por diferencia» a todas las sustancias comprendidas en ese número (3).

Glucógeno.—Con objeto de ver, como antes decimos, cuáles son las fracciones de hidratos de carbono susceptibles de dar sustancias glucogénicas, hemos determinado como la más importante el glucógeno que en los mismos pudiera haber.

Para ello hemos procedido primeramente a un tratamiento de la masa del cuerpo del mejillón con sosa al 30 por 100, precipitación del glucógeno por el alcohol etílico, hidrólisis subsiguiente en medio clorhídrico y valoración de la dextrosa por medio del ácido pícrico (4).

Los resultados obtenidos en el análisis inmediato efectuado en las muestras recogidas en la Ría de Vigo, a lo largo del año, se consignan en los siguientes cuadros.

Hemos referido la composición inmediata del mejillón, en primer

(3) FAO : «Elementos nutritivos productores de energía en los alimentos y cálculo de los valores energéticos en calorías». Wáshington, 1947.

(4) Besada Rial, J. R., y Rodríguez Molíns, L. : «Determinación colorimétrica del glucógeno en el mejillón (*Mytilus edulis*)». 1957.

lugar, al total de la parte comestible, ya que así se expenden en conserva; pero por creer que pudiera ser interesante conocer el porcentaje referido al animal completo, es decir, con concha, damos también su composición con respecto a éste.

CUADRO I

Composición inmediata de la parte comestible del mejillón

Muestra número	Fecha	Procedencia	Humedad %	Grasa %	Proteínas %	Cenizas %	Carbohidratos	
							Total dif. %	Glucógeno %
1	3-12-54	Estrecho de Rande... ...	74.76	1.91	13.76	1.36	8.21	1.80
2	28-12-54	Ensenada de Coya... ...	79.51	1.51	11.90	1.44	5.64	2.58
3	25- 1-55	Ensenada de Ríos	79.48	1.56	11.71	1.29	5.96	2.94
4	4- 2-55	Ensenada de Ríos	81.21	1.30	10.00	1.35	6.14	1.80
5	1- 3-55	Domayo	80.29	1.56	11.72	1.31	5.12	2.05
6	11- 3-55	Louredal	81.00	1.53	10.00	2.02	5.45	4.40
7	29- 3-55	Ensenada de Coya... ...	75.02	3.04	14.56	1.27	6.11	2.38
8	12- 4-55	Estrecho de Rande... ...	76.70	2.82	13.22	2.31	4.95	3.12
9	3- 5-55	Dársena Club Náutico (casco de madera) ...	79.60	2.76	10.25	1.40	5.99	1.23
10	10- 5-55	Ensenada de Coya... ...	77.60	2.34	14.29	1.60	4.17	1.08
11	24- 5-55	Playa Borna (Meira) ...	77.55	1.97	12.93	1.38	6.17	1.87
12	8- 6-55	Dársena Pto. Pesquero..	79.93	1.58	12.00	1.34	5.15	1.44
13	14- 6-55	Domayo	76.00	2.18	13.20	1.14	7.48	2.81
14	27- 6-55	Dársena Pto. Pesquero..	78.55	1.48	12.78	1.10	6.09	2.52
15	15- 7-55	Bayona	79.13	1.50	12.57	1.68	5.92	1.95
16	18- 8-55	Canabal	76 70	1.64	13.29	1.40	6.97	1.73
17	29- 8-55	Domayo	74.10	1.71	13.37	1.40	9.42	4.68
18	20- 9-55	Estrecho de Rande... ...	72.68	1.83	12.75	1.10	11.64	5.95
19	23- 9-55	Rande (Pta. Atravesada)	72.05	1.98	13.25	1.50	11.22	6.19
20	21-10-55	Muelle Dársena C. Naut.	77.87	2.15	12.28	1.20	6.50	3.03
21	25-10-55	Ensenada de Coya... ...	71.05	2.01	14.19	1.20	11.55	7.20
22	8-11-55	Ensenada de Ríos	72.45	2.57	14.13	1.25	9.60	6.30
23	23-11-55	Domayo	75.85	1.73	12.81	1.50	7.11	3.42
Composición media...			76.91	1.94	12.70	1.42	7.03	3.15

CUADRO II

Composición inmediata del mejillón con concha

Muestra número	Fecha	Procedencia	Desperdicios %	Humedad %	Grasa %	Proteínas %	Cenizas %	Carbohidrato Total dif. %	Carbohidrato Glucóge. %
1	3-12-54	Estrecho de Rande	72,85	20,30	0,52	3,73	0,37	2,23	0,49
2	28-12-54	Ensenada de Coya	78,07	17,44	0,33	2,61	0,31	1,24	0,57
3	25- 1-55	Ensenada de Ríos	79,38	16,39	0,32	2,41	0,27	1,23	0,61
4	4- 2-55	Ensenada de Ríos	77,32	18,42	0,29	2,27	0,31	1,39	0,41
5	1- 3-55	Domayo	83,91	12,92	0,25	1,89	0,21	0,82	0,33
6	11- 3-55	Louredal	83,46	13,40	0,25	1,66	0,33	0,90	0,73
7	29- 3-55	Ensenada de Coya	86,54	10,10	0,41	1,96	0,17	0,82	0,32
8	12- 4-55	Estrecho de Rande	76,33	18,15	0,67	3,13	0,55	1,17	0,74
9	3- 5-55	Dársena Club Náutico (barco casco madera).	84,44	12,39	0,43	1,59	0,22	0,93	0,19
10	10- 5-55	Ensenada de Coya	81,20	14,59	0,44	2,69	0,30	0,78	0,20
11	24- 5-55	Playa Borna (Meira) ...	70,70	22,72	0,58	3,39	0,40	1,81	0,55
12	8- 6-55	Dársena Pto. Pesquero..	83,03	13,56	0,27	2,04	0,23	0,87	0,24
13	14- 6-55	Domayo	71.60	21,58	0,62	3,75	0,32	2,13	0,80
14	27- 6-55	Dársena Pto. Pesquero..	79,55	16,06	0,30	2,61	0,23	1,25	0,51
15	15- 7-55	Bayona	80,16	15,70	0,30	2,49	0,33	1,02	0,39
16	18- 8-55	Canabal	78,74	16,31	0,35	2,82	0,30	1,48	0,37
17	29- 8-55	Domayo	69,52	22,59	0,52	4,07	0,43	2,87	1,43
18	20- 9-55	Estrecho de Rande	72,48	20,00	0,50	3,51	0,30	3,21	1,64
19	23- 9-55	Rande (Pta. Atravesada)	72,06	20,13	0,55	3,70	0,42	3,14	1,73
20	21-10-55	Muelle dársena C. Náutico	86,57	10,46	0,29	1,65	0,16	0,87	0,41
21	25-10-55	Ensenada de Coya	74,38	18,20	0,52	3,63	0,31	2,96	1,84
22	8-11-55	Ensenada de Ríos	67,33	23,67	0,84	4,62	0,41	3,13	2,06
23	23-11-55	Domayo	78,13	16,59	0,38	3,02	0,33	1,55	0,75
Composición media			77,72	17,03	0,43	2,86	0,31	1,65	0,75

Interpretación de los resultados

Si observamos la gráfica representativa de los valores obtenidos para la humedad, vemos que el máximo de su contenido corresponde a la muestra número 4, del mes de febrero, y el mínimo, a la muestra número 21, del mes de octubre, siendo dichos valores extremos los de 81,21 por 100 y 71,05 por 100, respectivamente.

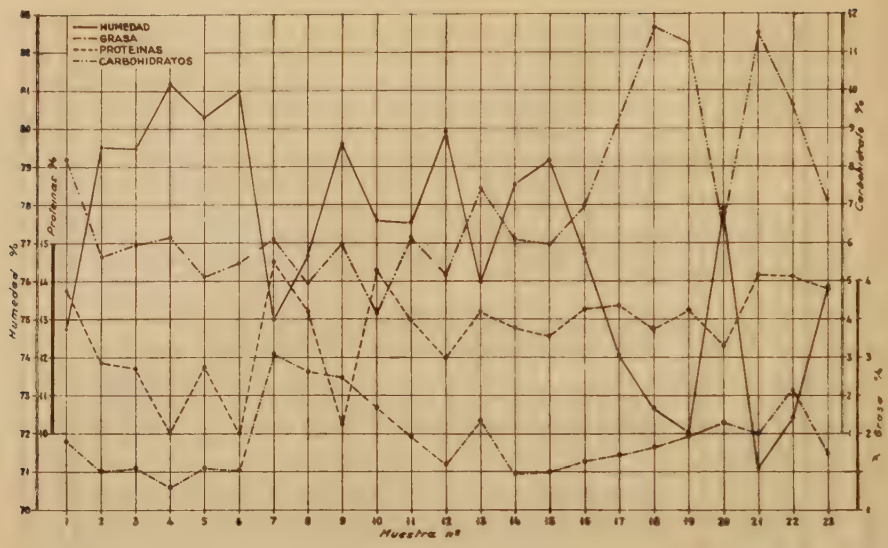

Fig. 4

Representaciones gráficas del porcentaje de humedad, grasas, proteínas y carbohidratos de la parte comestible del mejillón

Si ahora nos fijamos en la gráfica correspondiente a los contenidos de proteínas, notamos en seguida que a dichas épocas corresponden los valores mínimos y máximos, valores que son, respectivamente, de 10 por 100 y 14,19 por 100 (éste no es el máximo absoluto obtenido, ya que hay otro que corresponde a la muestra número 7, del mes de marzo, cuyo valor es el de 14,56 por 100), es decir, que el contenido en estas sustancias, agua y proteínas, tiene una relación inversa, y es curioso observar que hay casi una correlación perfecta entre ellas.

La grasa tiene una variación en todo igual a la de las proteínas, y por lo tanto varía inversamente su contenido con el de agua ; presenta, sin embargo, con relación a las proteínas, la anomalía de tener las muestras números 20 y 21 los valores invertidos, es decir, que a un mínimo en la muestra núm. 20 del valor de proteínas, corresponde un máximo en la misma muestra a la grasa, e igual acontece con la número 21, que a un máximo de las proteínas corresponde un mínimo de la grasa, volviendo a coincidir las gráficas para los valores de las muestras siguientes ; esta discrepancia en la marcha general de la gráfica corresponde al mes de octubre.

La muestra número 7, correspondiente al mes de marzo, presenta la peculiaridad de que el contenido de grasa y proteínas alcanza su valor máximo, o sea 14,56 por 100, para las proteínas, y 3,04 por 100, de grasa, y el porcentaje de agua viene a ser casi el valor medio de los obtenidos en el ciclo anual, es decir, 75,02 por 100.

La variación del contenido en los hidratos de carbono no presenta una concordancia tan perfecta con relación al agua como la de grasa y proteínas; pero no obstante, si nos fijamos, vemos que su contenido está en relación inversa al contenido de la misma, y así, en la muestra número 21, que presenta el mínimo valor absoluto (71,05 por 100) de agua, presenta de carbohidratos el de 11,55 por 100, que puede considerarse como el máximo del contenido del mismo (sólo la muestra número 18 da un contenido algo mayor: 11,64 por 100).

También se observa que el contenido en hidratos de carbono, a partir de enero, fluctúa dentro de unos límites estrechos hasta el mes de julio, y a partir de este mes su contenido aumenta rápidamente, llegando a alcanzar su valor máximo en septiembre (11,64 por 100), valor que se mantiene sensiblemente igual hasta el mes de octubre, donde llega a alcanzar el valor de 11,55 por 100 en la muestra número 21. Sin embargo, se presenta la anomalía de que la muestra número 20, correspondiente a este último mes, que debería dar un resultado análogo, da un valor extraño, haciendo descender fuertemente la curva hasta el porcentaje de 6,50 por 100. A esta anomalía quizás pueda encontrársele explicación si tenemos en cuenta que la muestra de referencia procede del muelle de la dársena del Club Náutico, y su contenido se mantiene casi igual a otras muestras recogidas en la misma zona, como la muestra número 9, que da un porcentaje de 5,99 por 100 y que, por lo tanto, no son mejillones criados en viveros, siendo su tamaño muy pequeño y el medio de vida que les rodea completamente distinto.

Con relación a las cenizas, obtenidas por incineración en la mufla, observamos que sus variaciones son muy pequeñas, obteniendo un valor máximo de 2,31 por 100, que corresponde a la muestra número 8, del mes de abril, y un mínimo de 1,10 por 100, que corresponde a la nuestra número 18, del mes de septiembre, no encontrándose ninguna relación entre éstas y los demás constituyentes de su composición inmediata.

Determinaciones realizadas en las cenizas

Determinación de cenizas solubles e insolubles en agua hirviendo y cloruros

Las cenizas obtenidas en la cápsula de cuarzo se trataron en la misma cápsula por agua hirviendo durante un buen rato (aproximadamente, una media hora), agitando bien con un agitador de vidrio, con objeto de pulverizar finamente la ceniza, a fin de conseguir una mejor solubilización. Se filtraron, lavando bien la cápsula y el agitador, así como el residuo contenido en el filtro, con agua hirviendo, y recogiendo el filtrado y las aguas de lavado en un vaso de paredes gruesas, determinando en el líquido recogido los cloruros, con nitrato de plata centinormal, por el método clásico.

El residuo insoluble recogido en el filtro se incineró en mufla a 500° C., determinando así el porcentaje de cenizas solubles e insolubles en agua hirviendo.

Determinación del calcio, hierro y fosfatos en medio clorhídrico

Las cenizas contenidas en la cápsula para estas determinaciones son tratadas de la siguiente manera : se añaden 25 ml. de ácido clorhídrico Merck y se evapora a sequedad en baño de vapor. Una vez bien desecadas, se agregan al residuo dos ml. de ácido clorhídrico Merck exactamente medidos, se cubre la cápsula con un vidrio de reloj y se calienta a baño de vapor durante unos cinco minutos. Se lava con agua destilada el vidrio de reloj, recogiendo este agua de loción en la misma cápsula, y se pasa todo, por filtración, a un matraz aforado de 100 ml., lavando bien con agua y diluyendo hasta el aforo.

En el líquido filtrado se hacen las determinaciones de calcio, hierro y fosfatos.

Calcio.—Partimos para su valoración de 10 ml. de la solución clorhídrica, precipitando el calcio en medio amoniacal a ebullición, con oxalato amónico, subsiguiente disolución en ácido sulfúrico y valoración con permanganato potásico centinormal.

Fosfatos.—La determinación de los fosfatos se hace por comparación con una disolución patrón de fosfato stándard, preparada disolviendo 0,4390 g. de fosfato potásico KH_2PO_4 (nosotros hemos utilizado el fosfato potásico para enzimas según Sorensen) en agua destilada y diluyendo a un litro. Se toman 10 ml. de esta disolución y se diluyen a 100 ml.

El problema se prepara tomando un ml. de la solución clorhídrica y diluyendo a 100 ml. con agua destilada. Tanto al patrón como al problema se le añaden dos ml. de una solución de molibdato-ácido sulfúrico (1 : 3) (preparada con molibdato amónico al 10 por 100 y ácido sulfúrico 1 : 1), y tres gotas de solución de cloruro estannoso (obtenida disolviendo 0,125 g. de $SnCl_2$ cristalizado purísimo en 25 ml. de HCl 1 : 10) recientemente preparada.

La lectura, que se hace en campanas Henner, nos da el contenido en miligramos de fósforo, valor que hay que multiplicar por el factor de conversión correspondiente para expresarlo en P_2O_5.

Si la solución tuviese un color demasiado intenso, la comparación se hace difícil, y para facilitarla se toman 50 ml. de cada una de las soluciones y se diluyen a 100.

Hierro.—Para su determinación hemos seguido en principio el método colorimétrico de Munsey con dipiridilo, con la modificación de que hicimos la lectura en el colorímetro de Hellige en vez de hacer comparaciones con soluciones distintas de concentración conocida de hierro (5).

En un matracito aforado de 25 ml. se vierten con una pipeta 10 ml. de la solución clorhídrica de las cenizas, se añade un ml. de solución acuosa de clorhidrato de hidroxilamina al 10 por 100 y se deja en reposo durante quince minutos. A continuación se añaden cinco ml. de solución tampón de acetato sódico y dos ml. de solución acuosa al 1 por 100 de α-α' dipiridilo, diluyendo inmediatamente hasta el aforo.

En otro matraz de 25 ml. se prepara el patrón, tomando 10 ml. de la solución stándard de hierro (preparada disolviendo 0,4318 g. de sulfato férrico amónico disueltos en un poco de agua ; se añaden 10 ml. de ácido clorhídrico concentrado Merck y se diluye hasta un litro). Cada ml. de esta solución contiene 50 gammas de hierro. Se añaden 0,2 ml. de ácido clorhídrico concentrado Merck, un ml. de

(5) WINTON, A. L., y WINTON, K. B. : «Análisis de alimentos». Buenos Aires, 1947, pág. 555.

solución al 10 por 100 de clorhidrato de hidroxilamina y se deja en reposo durante quince minutos. A continuación se añaden cinco ml. de solución tampón de acetato y dos ml. de solución al 0,1 por 100 de α - α' dipiridilo.

La lectura se hace, como ya hemos dicho, en el colorímetro de Hellige, empleándose la ya conocida fórmula para las determinaciones en este colorímetro. El resultado se expresa en miligramos de hierro por 100 g. de sustancia comestible.

Determinación de calcio, cobre y plomo en medio nítrico

Las cenizas contenidas en la cápsula destinada para estas determinaciones se disuelven en 20 ml. de ácido nítrico 2N, y después de agitar un rato para favorecer su disolución, se añaden 50 ml. de agua destilada y se hierve el conjunto durante un rato ; una vez hervida, se le añaden uno a dos ml. de ácido nítrico concentrado, hirviéndose nuevamente durante un corto tiempo, quedando así un líquido transparente y que sedimenta una porción insoluble.

Una vez frío, se pasa el líquido con el residuo a un matraz aforado de 250 ml., lavando bien la cápsula y el agitador con agua destilada y enrasando hasta el aforo. A continuación se toman 10 ml. para la determinación del calcio, 100 ml. para la determinación del cobre y 50 ml. para la del plomo.

Estas valoraciones se realizaron con arreglo a las siguientes técnicas :

Calcio.—Se determinó por el mismo procedimiento que el seguido para esta valoración en medio clorhídrico.

Cobre. — Se valoró colorimétricamente con el dietil-ditio-carbamato sódico (6), procedimiento adoptado por uno de nosotros en un trabajo anterior.

Plomo.—Se determinó colorimétricamente por medio del sulfuro sódico, método que también ha sido objeto de un trabajo anterior (7) realizado también en este Laboratorio.

---

(6) Rodríguez Molíns, L. : «Determinación colorimétrica del cobre en el agua del mar y en el mejillón (*Mytilus edulis*)». 1957.

(7) López Costa, R., y Rodríguez Molíns, L. : «Determinación colorimétrica del plomo en el mejillón (*Mytilus edulis*) de la Ría de Vigo». 1957.

Los resultados obtenidos se consignan en el cuadro siguiente, que representa la composición química de las cenizas obtenidas de la parte comestible del mejillón.

CUADRO III

Muestra número	Fecha	Procedencia	Cenizas			Sales minerales					
			Totales %	Solubles %	Insolubl. %	NaCl mgrs. % gr.	Ca mgrs. % gr.	P_2O_5 mgrs. % gr.	Fe mgrs % gr.	Cu mgrs. % gr.	Pb mgrs. % gr.
1	3-12-54	Estrecho de Rande... ...	1,36	0,23	1,13	—	—	—	—	—	—
2	28-12-54	Ensenada de Coya... ...	1,44	0,79	0,65	48,6	79,0	—	—	—	—
3	25- 1-55	Ensenada de Ríos	1,29	0,31	0,98	18,0	80,2	—	—	0,227	—
4	4- 2-55	Ensenada de Ríos	1,35	0,54	0,81	29,0	79,0	213,0	—	0,240	0,0011
5	1- 3-55	Domayo	1,31	0,52	0,79	29,0	78,6	423,6	2,13	0,198	0,0031
6	11- 3-55	Louredal	2,02	1,11	0,91	81,0	67,0	425,9	2,34	0,217	0,0044
7	29- 3-55	Ensenada de Coya... ...	1,27	0,32	0,95	27,0	49,6	195,1	3,78	0,080	0,0060
8	12- 4-55	Estrecho de Rande... ...	2,31	0,92	1,39	43,0	71,9	92,6	1,00	0,225	0,0066
9	3- 5-55	Dársena Club Náutico (casco de madera) ...	1,40	0,28	1,12	31,4	78,3	368,7	indicios	0,233	0,0055
10	10- 5-55	Ensenada de Coya... ...	1,60	0,31	1,29	40,3	82,2	462,6	11,60	0,037	0,0072
11	24- 5-55	Playa Borna (Meira) ...	1,38	0,22	1,16	20,1	79,8	389,3	5,60	0,100	0,0060
12	8- 6-55	Dársena Pto. Pesquero..	1,34	0,14	1,20	5,9	81,4	343,5	9,00	0,100	0,0057
13	14- 6-55	Domayo	1,14	0,35	0,79	19,5	59,8	420,7	9,20	0,097	0,0045
14	27- 6-55	Dársena Pto. Pesquero..	1,10	0,36	0,74	9,23	33,2	400,7	8,75	0,035	0,0067
15	15- 7-55	Bayona	1,68	0,55	1,13	33,4	58,0	439,7	5,60	0,043	0,0075
16	18- 8-55	Canabal	1,40	0,44	0,96	9,45	67,5	412,2	9,10	0,100	—
17	29- 8-55	Domayo	1,40	0,39	1,01	9,74	58,5	260,1	5,50	0,060	—
18	20- 9-55	Estrecho de Rande... ...	1,10	0,32	0,78	11,7	26,1	240,0	4,25	0,095	0,0071
19	23- 9-55	Rande (Pta. Atravesada)	1,50	0,73	0,77	70,1	54,7	183,2	3,90	0,101	0,0065
20	21-10-55	Muelle Dársena C. Naut.	1,20	0,19	1,01	11,7	74,2	458,0	8,50	0,102	0,0077
21	25-10-55	Ensenada de Coya... ...	1,20	0,23	0,97	12,6	64,3	248,9	4,40	0,110	0,0070
22	8-11-55	Ensenada de Ríos	1,25	0,28	0,97	12,45	58,8	435,1	5,20	0,112	0,0075
23	23-11-55	Domayo	1,50	0,42	1,08	11,0	76,2	458,0	5,00	0,100	0,0067
Composición media			1,42	0,44	0,98	26,5	70,8	343,5	6,10	0,124	0,0059

Digestibilidad

Una vez realizadas las determinaciones necesarias para el conocimiento de la composición química inmediata de un alimento, se observa que el hecho de que contenga un tal o cual porcentaje de determinadas sustancias no nos da a conocer su valor nutritivo, ya que, como es natural, éste está íntimamente ligado con su grado de digestibilidad. Así vemos, por ejemplo, que el músculo y el pulmón del ganado vacuno contienen casi igual cantidad de prótidos, pero en cambio su valor alimenticio no es igual (8), siendo esto debido a su desigual digestibilidad.

Por eso nosotros, para poder estudiar el valor alimenticio del mejillón, que sirviera de complemento al presente trabajo, hemos querido hacer unos estudios sobre su digestibilidad, y, en su consecuencia, hemos revisado las técnicas en uso, la química y la biología, decidiéndonos en este trabajo por la primera, por estimar que se ajustaba más a la marcha seguida en el mismo.

Si entendemos por digestibilidad la relación porcentual que existe entre la cantidad de alimento ingerido y el asimilado, tenemos, como es natural, que proceder en primer término a una digestión artificial del mejillón.

En los seres vivos, la digestibilidad de un alimento es la suma promedio de la digestibilidad de cada uno de los principios que lo componen.

La porción digestible va a formar parte de los músculos, o bien es metabolizada o excretada por la orina. El hepatopáncreas produce poderosos fermentos de tres clases que obran, respectivamente, sobre las materias proteicas, grasas y glucógeno, a las que hacen fácilmente asimilables.

Teniendo en cuenta que este molusco se consume tanto en fresco como en conserva, las pruebas de digestibilidad por nosotros realizadas se han verificado sobre su carne fresca y cocida, para igualar en lo más posible las condiciones de digestibilidad con relación a la forma en que son ingeridos por el hombre.

Los mejillones, ya en fresco o cocidos, se sometieron a una minuciosa trituración en un masticador, y después de triturados se

(8) Clavera, Prof. : «Los problemas de la alimentación». Editorial Prieto. Granada, 1947.

deshizo la masa en un mortero hasta reducirla a una papilla finísima. Se tomó de cada uno de ellos una porción de 10 g. y se colocaron en un matraz, cada uno con 125 ml. de ácido clorhídrico al 2 por 1.000, añadiéndole 0,4 g. de pepsina. Al conjunto se le adicionan cinco gotas de toluol, añadidas con pipeta, con lo que se impiden las posibles fermentaciones microbianas que pudieran tener lugar durante la digestión, llevando los matraces a una estufa a 37° C. y agitando de vez en cuando.

A los tres días de permanencia en la estufa se recoge en unos filtros, previamente tarados, por decantación y filtración, el residuo no digerido. Las partes no disueltas se desecan en estufa a 40° C. en los mismos filtros donde se han recogido; una vez secos, se pesan nuevamente.

El residuo pesado se refiere a 100 g. de carne, sirviéndonos este dato de coeficiente de digestibilidad.

Hemos de hacer constar que este coeficiente de digestibilidad obtenido se refiere solamente a las proteínas.

Teniendo en cuenta que el coeficiente de digestibilidad se relaciona con el título de la pepsina que se emplea para la digestión, es de capital importancia la titulación de la misma.

Hemos ensayado varias pepsinas, siguiendo los métodos oficiales de las farmacopeas española y británica, y del «Tratado de Farmacia práctica», de Hager.

La prueba la hicimos de la siguiente manera: se cuece un huevo de gallina fresco, manteniéndolo durante diez minutos en agua hirviendo, luego se enfría en agua, se separan perfectamente la cáscara y los vitelos, así como la yema, procurando hacer esta operación lo más minuciosamente posible para impedir que la clara coagulada vaya acompañada de alguna sustancia extraña. Después se pasa la clara a través de las mallas de un tamiz. Nosotros hemos realizado esta operación pasando la clara de huevo a través de las mallas de una gasa estirada sobre una placa de vidrio, presionándola con una ancha espátula de plástico; de esta forma la clara de huevo queda entre las mallas de la gasa en un estado de división muy fina, recogiéndola a continuación. Esta operación, que en principio ofrecía dificultades debido a la poca consistencia de la clara para ser tamizada, quedó resuelta efectuándola de la forma dicha.

Se toman 10 g. de la clara tamizada y se ponen en 90 ml. de una mezcla de 100 ml. de agua a 50° C. y 0,5 ml. de ácido clorhídrico concentrado, y se agita; luego se le añaden a la mezcla 0,1 g.

de pepsina a valorar desleída en 10 ml. de agua clorhídrica. Esta mezcla se mantiene durante tres horas a 45° C., agitándola cada cuarto de hora. Pasado este tiempo, la clara de huevo debe quedar totalmente disuelta, quedando solamente unas películas amarillentas.

Esta comprobación del título es imprescindible, pues la mayor parte de las pepsinas comerciales no tienen el poder proteolítico prescrito.

Para cerciorarnos de que la transformación en peptonas fué completa, el líquido que contiene la albúmina disuelta, después de haber sido calentado seis horas más, se somete a la siguiente prueba: una muestra de dicho líquido filtrado sólo debe dar un ligero enturbiamiento con el ácido nítrico, pero no precipitado.

Por la acción de la pepsina, la albúmina se convierte, primero, en hemialbumosa, que todavía precipita con el ácido nítrico (de 20 a 30 gotas), y si continúa la acción, se transforma totalmente en peptona, que ya no debe dar precipitado con el mencionado ácido.

También hemos ensayado la determinación del título de la pepsina valiéndonos de una solución de caseína, que se había disuelto en una lejía de sosa 0,1 N, manteniéndola a una temperatura de 40° C. (9).

Desde luego, insistimos en que es necesario hacer la comprobación del título de la pepsina, ya que si por su título entendemos la cantidad de veces que digiere su peso de albúmina (clara de huevo coagulada por el calor), claramente se ve que los resultados que obtuviéramos serían erróneos si su título no correspondiera al fijado.

Después de varios ensayos con diversas pepsinas comerciales, hemos trabajado con una de título 100, en la que además hemos realizado todos los ensayos necesarios para asegurarnos de su pureza.

Los resultados obtenidos para el coeficiente de digestibilidad de la carne del mejillón en fresco dieron un valor medio de 95 por 100, y el obtenido sobre la carne cocida de los mismos fué del 85 por 100.

El valor del coeficiente de digestibilidad obtenido para la carne del mejillón cocida debe de ser inferior al de la carne en crudo, ya que, como es natural, por la cocción a que fué sometida se pierden una porción de principios nutritivos solubles en el agua hirviendo.

---

(9) HAGER: «Tratado de Farmacia práctica». Editorial Labor. Barcelona, 1942.

Cálculo de los valores energéticos

Al aplicar los coeficientes para el cálculo del valor energético producido en nuestro organismo al asimilar la carne del mejillón, hemos de tener en cuenta los dos conceptos que en la actualidad existen del valor energético: el total y el fisiológico.

El valor energético total es el resultado de la suma de los productos obtenidos al multiplicar el porcentaje del contenido en grasa, carbohidratos y proteínas, por los factores correspondientes; y para la determinación del valor energético fisiológico hay que tener en cuenta las pérdidas ocurridas durante la digestión del alimento y, además, las correspondientes a la incompleta combustión de estas sustancias.

Este valor energético fisiológico es el que verdaderamente tiene significación en la nutrición, y a su estudio y conocimiento completo se dedican en la actualidad muchos investigadores, ya que son las calorías que nos expresa este valor las que han de producir en el organismo el efecto deseado.

Atwater ha realizado numerosas determinaciones sobre los compuestos nitrogenados existentes en las orinas de personas sometidas a dietas mixtas, observando que la pérdida debida a la eliminación por la orina de los compuestos nitrogenados que no han sido completamente oxidados, y de las sustancias no nitrogenadas, viene expresado por el número 1,25, que representa las calorías por gramo de sustancia ingerida.

Por lo tanto, en la comparación del valor energético de los alimentos debería usarse como tal el valor energético fisiológico, y éste, como es lógico, y por las causas antedichas, ha de ser menor que el valor energético total.

En este trabajo hemos aplicado los factores para alimentos especiales de Atwater (10), que son: para las proteínas, 4,27; para las grasas, 8,79, y para los hidratos de carbono, 3,87, en vez de los generales usados comúnmente, que son: 4 para las proteínas e hidratos de carbono y 9 para las grasas.

Los resultados obtenidos para cada una de las muestras estudiadas, así como los coeficientes medios de digestibilidad para las muestras en fresco y cocidas, se relacionan en el cuadro siguiente:

(10) FAO. op. cit. (3).

CUADRO IV

Valores energéticos calculados y coeficientes medios de digestibilidad

Muestra número	Fecha	Procedencia	Calorías por 100 gr. en mejillones enteros	Calorías por 100 gr. en partes comestibles	Coeficiente medio de digestibil. frente a pepsina	
					En mejillones frescos	En mejillones cocidos
1	3-12-54	Estrecho de Rande... ...	29,25	107,76		
2	28-12-54	Ensenada de Coya	18,92	86,26		
3	25- 1-55	Ensenada de Ríos	17,94	87,14		
4	4- 2-55	Ensenada de Ríos	17,68	78,19		
5	1- 3-55	Domayo	13,49	83,92		
6	11- 3-55	Louredal	12,82	77,59		
7	29- 3-55	Ensenada de Coya... ...	15,24	113,24		
8	12- 4-55	Estrecho de Rande... ...	23,93	101,05		
9	3- 5-55	Dársena Club Náutico (casco de madera) ...	14,27	91,85		
10	10- 5-55	Ensenada de Coya... ...	18,48	98,27		
11	24- 5-55	Playa Borna (Meira) ...	28,41	96,86	95 %	85 %
12	8- 6-55	Dársena Pto. Pesquero..	14,49	85,42		
13	14- 6-55	Domayo	29,84	104,97		
14	27- 6-55	Dársena Pto. Pesquero..	17,79	91,49		
15	15- 7-55	Bayona	16,39	87,01		
16	18- 8-55	Canabal	20,03	95,51		
17	29- 8-55	Domayo	33,18	108,97		
18	20- 9-55	Estrecho de Rande... ...	31,92	116,00		
19	23- 9-55	Rande (Pta. Atravesada)	32,91	117,86		
20	21-10-55	Muelle Dársena C. Naut.	13,01	96,99		
21	25-10-55	Ensenada de Coya... ...	31,65	123,42		
22	8-11-55	Ensenada de Ríos	39,42	120,68		
23	23-11-55	Domayo	22,33	102,09		
Valores medios			22,32	99,24	95 %	85 %

Estudio comparativo de la composición química del mejillón con la de otros moluscos comestibles

A continuación se expresa en el siguiente cuadro la composición química inmediata de algunos de los moluscos de consumo más frecuente en España, con objeto de poder establecer una comparación entre la composición química inmediata de los mismos.

De las especies que se relacionan, solamente el berberecho, es-

tudiado por nuestros compañeros los señores Rodríguez de las Heras y López Costa, corresponden a la Ría de Vigo, perteneciendo las demás especies a los países de origen de los investigadores que los han estudiado ; pero, no obstante, nosotros las consignamos en este trabajo, ya que pueden servir de término de comparación para estudios posteriores.

Consideraciones sobre la determinación de vitaminas

Si examinamos cuadros o tablas de composición de alimentos, vemos que la mayor parte de las veces son confusas en lo que concierne a su contenido vitamínico, debido, como dice Y. Raoult (18), a que son muchas las dificultades típicas que se presentan en la determinación de las vitaminas lipo e hidrosolubles, debido a la falta de investigaciones bioquímicas correspondientes.

Los métodos físico-químicos para la dosificación de las vitaminas A y D dan con comodidad su valor solamente en el caso de productos muy ricos en dichas vitaminas, tal como sucede en los aceites de hígados de pescado. Sin embargo, la industria exige una precisión que dichos métodos no dan, ya que de ella depende el beneficio de la misma. El problema de su determinación se hace aún más difícil cuando su contenido está por debajo de las mil unidades internacionales por gramo, es decir, que el problema de su determinación solamente es fácil y seguro cuando los productos a valorar son de una gran riqueza vitamínica, caso que no sucede en el mejillón, objeto de este trabajo, y que se estima de contenido bajo.

Con relación al complejo B_{12}, los métodos físico-químicos preconizados para su valoración son solamente utilizados en soluciones puras o poco complejas. Los métodos más seguros para su determinación son los biológicos, en los que se emplean lactobacilos.

Según Randoin (19), la carne de moluscos contiene una discreta cantidad de vitamina C. Más tarde, Jones y Murphy (20) ponen de manifiesto en la ostra las vitaminas A y B (B_1 y B_2), y en la ostra

(18) Gautier, J. A. : «Mises au point de Chimie analytique pure et appliquée et d'analise Bromatologique». París, 1954.

(19) Randoin : «Etude des vitamines chez les mollusques». C. R. Ac. des Sciences. (1923).

(20) Jones, D. B., and Murphy, J. C. : «The vitamin content of oysters». Proc. of the Soc. f. expl. Biol. a Med. XXIII, 519 (1926).

CUADRO V

Cuadro comparativo de la composición química inmediata sobre parte comestible de algunos moluscos

Especie	Humedad %	Grasa %	Proteínas %	Cenizas %	Carbohidratos %	Glucógeno %	Autores
Ostra (*Ostrea edulis*) ...	78,65	2,17	10,06	1,34	7,77	6,76	Gaarder, T., y Alvasker, E. (11).
Almeja (*Tapes*, diversos tipos)	80,8	1,1	10,6	2,3	5,2	—	Langworthy, C. F. (12).
Vieira (*Pecten*, diversos tipos)	80,3	0,1	14,8	1,4	3,4	—	Atwater, W. O., y Bryant, A. P. (13)
Berberecho (*Cardium edule*, L.)	80,60	0,65	14,5	2,9	—	—	R. de las Heras, A., y López Costa, R. (14).
Mejillón (*Mytilus*)	84,2	1,1	8,7	1,9	4,1	—	Atwater, W. O., y Bryant, A. P. (15).
Mejillón (*Mytilus*)	83,27	1,64	10,18	1,99	1,74	—	Field, I. A. (16).
Mejillón (*Mytilus edulis*)	76,91	1,94	12,70	1,42	7,03	3,15	R. Molíns, L., y Besada, J. R. (17).

(11) «Biology and Chemistry of the Oyster in Norwegian Waters». Bergen Museum Yearbook (1941).

(12) «Fish as Food». U. S. Dept. Agr., Farmers'Bull., 85, Revised (1907).

(13) «The Chemical Composition of American Food Materials». U. S. Dept. Agr., Office Expt. Sta. Bull., 28, Revised (1906).

(14) «Composición química del croque o berberecho». Notas y resúmenes del Inst. Esp. Ocean., serie II, núm. 137.

(15) «The Chemical Composition of American Food Materials». U. S. Dept. Agr., Sta. Bull., 28, Revised (1906).

(16) «Food value of Sea Mussels». U. S. Bureau of Fisheries Bull., 29, 85-128 (1909).

valoran la vitamina D Stepp, Kuhnau y Schröder (1936), dando un valor de 0,00016 mg. por 100 gramos de sustancia comestible.

Por todo lo expuesto, y considerando al mejillón como de bajo contenido vitamínico, no nos hemos decidido a hacer su valoración cuantitativa.

Instituto Español de Oceanografía.
Laboratorio de Vigo

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

ATWATER, W. O. and BRYANT, A. P.: «The Chemical Composition of American Food Materials». U. S., Dept. Agr., Office Expy. Sta. Bull, 28 Revised (1906).

B. D. H. Book of Organic Reagents for Analytical Use. Dorset (1949).

BERMEJO BIEL, J. R., y RODRÍGUEZ MOLINS, L.: «Determinación colorimétrica del glucógeno en el mejillón (*Mytilus edulis*)» (1957).

BERNARD, W.: «Les produits d'origine marine et fluviale». París (1948).

BRITISH PHARMACOPEIA (1953).

CABRERA, Prof.: «Los problemas de la alimentación». Edit. Prieto. Granada (1947).

DA SILVA GRAÇA, M. E., CARVALHO ALMEIDA, R., y MELO COSTA, M. R.: «La composición química y valor nutritivo de las ostras portuguesas». Instituto de Higiene. Dr. Ricardo Jorge. Lisboa (1954).

FAO: «Elementos nutritivos productores de energía en los alimentos y cálculo de los valores energéticos en calorías». Wáshington (1947).

FARMACOPEA OFICIAL ESPAÑOLA. Octava edición. Espasa-Calpe, S. A. Madrid (1930).

FIELD, I. A.: «Food Value of Sea Mussels». U. S. Bureau of Fisheries Bull. 29, 85-128 (1909).

GARTNER, T., y ALWASKER, E.: «Biology and Chemistry of the Oyster in Norwegian Waters». Bergen Museum Yearbook (1941).

GAUTIER, J. A.: «Mises au point de Chemie analytique pure et appliquée et d'analyse Bromatologique». París (1954).

HAGER: «Tratado de Farmacia práctica». Edit. Labor. Barcelona (1942).

HERDMAN, W.: «Founders of Oceanography». London (1923).

JONES, D. B., and MURPHY, J. C.: «The Vitamin Content of Oysters». PROC. OF THE SOC. F. EXP. BIOL. A MED. XXIII, 519 (1926).

ESTADÍSTICA DE PESCA. Dirección General de Pesca Marítima. Madrid. Años 1940-1953.

LANGWORTHY, C. F.: «Fish as Food». U. S. Dept. Agr., Farmer's Bull, 85, Revised (1907).

LÓPEZ COSTA, R., y RODRÍGUEZ MOLINS, L.: «Determinación colorimétrica del plomo en el mejillón (*Mytilus edulis*) de la Ría de Vigo» (1957).

PINSO, Giuseppe: «I Prodotti della Pesca». Segunda edic. Milano (1950).

RANDOIN, L.: «Etude des vitamines chez les mollusques». C. R. Ac. des Sciences (1923).

R. DE LAS HERAS, A., y LÓPEZ COSTA, R.: «Composición química del croque o berberecho». Notas y resúmenes del Inst. Esp. Ocean. Serie II, número 137 (1946).

RODRÍGUEZ MOLINS, L.: «Determinación colorimétrica del cobre en el agua del mar y en el mejillón (*Mytilus edulis*)» (1957).

TRESSLER, D. K., and LEMON, J. McW.: «Marine Products of Commerce». Segunda edic. New York (1951).

WINTON, A. L., y WINTON, K. B.: «Análisis de alimentos». Buenos Aires (1947).

de las deter

Muestra número	Fecha	Procedencia	Desperdicios %	Carne comestible %	Humedad %	Grasa %	Proteínas %
1	3-12-54	Estrecho de Rande... ...	72,85	27,15	74,76	1,91	13,76
2	28-12-54	Ensenada de Coya... ...	78,07	21,93	79,51	1,51	11,90
3	25- 1-55	Ensenada de Ríos	79,38	20,62	79,48	1,56	11,71
4	4- 2-55	Ensenada de Ríos	77,32	22,68	81,21	1,30	10,00
5	1- 3-55	Domayo	83,91	16,09	80,29	1,56	11,72
6	11- 3-55	Louredal	83,46	16,54	81,00	1,53	10,00
7	29- 3-55	Ensenada de Coya... ...	86,54	13,46	75,02	3,04	14,56
8	12- 4-55	Estrecho de Rande... ...	76,33	23,67	76,70	2,82	13,22
9	3- 5-55	Dársena Club Náutico (casco de madera) ...	84,44	15,56	79,60	2,76	10,25
10	10- 5-55	Ensenada de Coya... ...	81,20	18,80	77,60	2,34	14,29
11	24- 5-55	Playa Borna (Meira) ...	70,70	29,30	77,55	1,97	12,93
12	8- 6-55	Dársena Pto. Pesquero..	83,03	16,97	79,93	1,58	12,00
13	14- 6-55	Domayo	71,60	28,40	76,00	2,18	13,20
14	27- 6-55	Dársena Pto. Pesquero..	79,55	20,45	78,55	1,48	12,78
15	15- 7-55	Bayona	80,16	19,84	79,13	1,50	12,57
16	18- 8-55	Canabal	78,74	21,26	76,70	1,64	13,29
17	29- 8-55	Domayo	69,52	30,48	74,10	1,71	13,37
18	20- 9-55	Estrecho de Rande... ...	72,48	27,52	72,68	1,83	12,75
19	23- 9-55	Rande (Pta. Atravesada)	72,06	27,94	72,05	1,98	13,25
20	21-10-55	Muelle Dársena C. Naut.	86,57	13,43	77,87	2,15	12,28
21	25-10-55	Ensenada de Coya... ...	74,38	25,62	71,05	2,01	14,19
22	8-11-55	Ensenada de Ríos	67,33	32,67	72,45	2,57	14,13
23	23-11-55	Domayo	78,13	21,87	75,85	1,73	13,81
Composición media...			77,72	22,28	76,91	1,94	12,70

presente trabajo

...as		Sales minerales						Calorías por 100 gr.	Digestibilidad frente a pepsina	
...bles %	Insolubles %	NaCl mgr. % gr.	Ca mgr. % gr.	P_2O_5 mgr. % gr.	Fe mgr. % gr.	Cu mgr. % gr.	Pb mgr. % gr.		Mejillones frescos	Mejillones cocidos
23	1,13	—	—	—	—	—	—	107,76		
79	0,65	48,6	79,0	—	—	—	—	86,26		
31	0,98	18,0	80,2	—	—	0,227	—	87,14		
54	0,81	29,0	79,0	213,0	—	0,240	0,0011	78,19		
52	0,79	29,0	78,6	423,6	2,13	0,198	0,0031	83,92		
11	0,91	81,0	67,0	425,9	2,34	0,217	0,0044	77,59		
32	0,95	27,0	49,6	195,1	3,78	0,080	0,0060	113,24		
92	1,39	43,0	61,9	92,6	1,00	0,225	0,0066	101,05		
28	1,12	31,4	78,3	368,7	indicios	0,233	0,0055	91,85		
31	1,29	40,3	82,2	462,6	11,60	0,037	0,0052	98,27		
22	1,16	20,1	79,8	389,3	5,60	0,100	0,060	96,86	95 %	85 %
14	1,20	5,9	81,4	343,5	9,00	0,100	0,057	85,42		
35	0,79	19,5	59,8	420,7	9,20	0,097	0,0045	104,97		
36	0,74	9,23	33,2	400,7	8,75	0,035	0,0067	91,49		
55	1,13	33,4	58,0	439,7	5,60	0,043	0,0075	87,01		
44	0,96	9,45	67,5	412,2	9,10	0,100	—	95,51		
39	1,01	9,74	58,5	260,1	5,50	0,060	—	108,97		
32	0,78	11,7	26,1	240,0	4,25	0,095	0,0071	116,00		
73	0,77	70,1	54,7	183,2	3,90	0,101	0,0065	117,86		
19	1,01	11,7	74,2	458,0	8,50	0,102	0,0077	96,99		
23	0,97	12,6	64,3	248,9	4,40	0,110	0,0070	123,42		
28	0,97	12,45	58,8	435,1	5,20	0,112	0,0075	120,68		
42	1,08	11,0	76,2	458,0	5,00	0,100	0,0067	102,09		
44	0,98	26,5	70,8	343,5	6,10	0,124	0,0059	99,24	95 %	85 %

ADVERTENCIAS A NUESTROS COLABORADORES

Los originales que se entreguen para su publicación en este Boletín, deberán prepararse con arreglo a las siguientes normas:

1.ª Deberán escribirse a máquina, a doble espacio y por una sola cara del papel.

2.ª El título expresará de un modo conciso el contenido del mismo.

3.ª Las referencias bibliográficas se harán por llamada al pie de página, indicándose: nombre del autor (en iniciales) y apellidos (en versalitas); denominación de la revista o libro (en cursiva y en forma abreviada); indicación de la serie (entre paréntesis); si se trata de libros, se añadirán editorial, población y año.

4.ª Estos antecedentes bibliográficos se reducirán estrictamente a los que tengan relación inmediata con el trabajo.

5.ª Cuando se haga referencia a algún método general ya establecido por otros autores, se omitirá la descripción de dicho método, citando tan sólo el trabajo original en que figure.

6.ª Los gráficos y esquemas se limitarán en lo posible y deberán dibujarse sobre papel vegetal, con tinta china, teniendo cuidado de que no excedan de dos o tres aumentos sobre las dimensiones lineales de nuestra publicación y de que estén dibujados los trazos, guarismos y letras con energía suficiente para que su lectura sea fácil una vez reducidos al tamaño adecuado.

7.ª Los esquemas y fotografías que deban ser considerados a escala, deberán ir acompañados de una clara especificación de los aumentos del original, con objeto de que, una vez hecha la reducción en el grabado, puedan calcularse con exactitud los nuevos aumentos.

8.ª Las ilustraciones, tanto fotografías como dibujos, deberán hacerse teniendo en cuenta el contenido del punto 6.º de estas advertencias y que han de prestarse, por su claridad, a una reproducción perfecta. En el caso de que algún autor no disponga de elementos adecuados para remitir pruebas fotográficas que llenen tales requisitos, deberá enviarnos los negativos originales, acompañados de una prueba testigo, numerada. Si se trata de microfotografías, pueden remitírsenos las preparaciones para que sean reproducidas en nuestros laboratorios, con indicación en la preparación del campo que interesa fotografiar.

9.ª Los caracteres o tipos a emplear en la impresión deberán determinarse en los originales de la siguiente manera:

Cursiva: _____

VERSALITAS: ═══

VERSALES: ═══

Negritas: _____

10.ª Cuando se envíen las pruebas al autor, para su corrección, deberá efectuarse ésta en un plazo no superior a diez días, teniendo en cuenta que cualquier modificación que altere el texto original sólo podrá hacerse previa consulta a nuestra Junta de publicaciones, ya que los originales entregados para su publicación a este Instituto se consideran siempre como definitivamente redactados.

11.ª Aquellos originales que no se ajusten a las normas precedentes podrán ser desechados por la Junta de publicaciones o, en caso de que ésta decida rehacer algunos esquemas o gráficos en forma apta para su reproducción, se cargarán los gastos que se originen al autor del trabajo.

12.ª Los autores acompañarán, en francés o inglés (o simplemente en castellano), un resumen de su trabajo, que no excederá de una extensión de 10 líneas de nuestro Boletín.

64.—F. Lozano Cabo: «Notas sobre una Campaña de prospección pesquera en la Mar Chica de Melilla».

65.—A. Fernández del Riego y A. Rodríguez de las Heras: «Determinación colorimétrica de la alteración del pescado».

66.—Fernando Lozano Cabo: «Una campaña de prospección pesquera en Mar Menor (Murcia)».

67.—Luis Bellón †: «Historia Natural del Atún, *Thunnus thynnus* (L.). Ensayo de síntesis».

68.—Pedro Balle: «Análisis cualitativo del fitoplancton de la Bahía de Palma de Mallorca en 1953».

69.—Joaquín Gómez de Llarena: «Algunos datos sobre sedimentos recogidos por el «Xauen» en la campaña de otoño de 1952».

70.—Francisco Hernández Pacheco: «Características del zócalo continental del Africa Occidental española». (Encuadernado con el boletín número 69.)

71.—Campañas del «Xauen» en los años 1949 y 1950. Registro de operaciones.

72.—García Pineda y Dominica Montequi: «Acerca de la sustancia anticoagulante de las algas rojas.»

73.—A. Rojo Lucio: «Datos sobre la edad del bacalao (*G. callarias* L.), eglefino (*Melanogrammus aeglefinus* L.), colín (*Pollachius virens* L.) y locha (*Urophycis tenuis* Mitch.), con indicación de las técnicas usadas.»

74.—Luis Lozano Rey: «Sobre el fomento de la producción pesquera de las aguas marinas y salobres confinadas; en el litoral de España y en el de sus Territorios de Soberanía y de Protectorado.»

75.—A. R. de las Heras, R. López Costa, F. Cabañas, L. Rodríguez Molins y R. Besada: «Análisis de fondos de la Bahía de Cádiz.»

76.—Angeles Alvariño: «Estudio del zooplancton recogido en la campaña «Vendaval», en Terranova. Marzo, abril y mayo de 1953.»

77.—Angeles Alvariño: «Zooplancton de Terranova (Febrero, marzo y junio de 1955)». (Encuadernado con el Boletín núm. 76.)

78.—Antonio Fernández del Riego: «El contenido en carbono orgánico en los sedimentos de la ría de Vigo. Algunos datos sobre la relación carbono-nitrógeno.»

79.—D. Montequi y M.ª D. García Pineda: «Algunas observaciones acerca de la determinación del contenido lipídico en harinas de pescado.» (Encuadernado con el Boletín núm. 78.)

80.—Miguel O. Massuti: «Biología de la sardina de Baleares.»

81.—Angeles Alvariño: «Estudio del Zooplancton del Mediterráneo Occidental.»

82.—Angeles Alvariño: «Zooplancton del Atlántico Ibérico. Campañas del «Xauen» en el verano de 1954.» (Encuadernado con el Boletín núm. 81.)

83.—Campañas del «Xauen» en el Mediterráneo español y en las costas noroeste y cantábrica de España en el año 1951.

NOTA.—Pedidos y correspondencia al Sr. Secretario del Instituto Español de Oceanografía, Alcalá, 27. Madrid.

INSTITUTO ESPAÑOL DE OCEANOGRAFIA

Imp F. Domenech, S.A. Tel. 31 46 85